



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie Animale

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie et control de population d'insecte

Intitulé :

**Etude comparative des méthodes d'extraction de plantes utilisées
comme bio pesticide contre les *Culicidea* (Cas de l'espèce *Culex
pipiens* en Algérie)**

Présenté et soutenu par : TALEB Ihssane
Boudemagh Imene

Le : 20 septembre 2020

Jury d'évaluation :

Présidente du jury :	BAKKIRI Esma	Docteur	Université des frères Mentouri.
Rapporteur :	AOUATI Amel	Docteur	Université SB Constantine 3.
Examineur:	AGUIB Sihem	Docteur	Université des frères Mentouri.

***Année universitaire
2019-2020***

Remerciment

Un grand merci à Dieu pour nous avoir donné tant de patience pour pouvoir continuer et terminer ce modeste travail malgré les obstacles et les embuches. et pour la volonté et la santé qu'il nous a donné durant toutes les longues années d'études a fin que nous puissions arriver là.

*Nous exprimons nos plus vifs remerciements à notre encadreur : **Mme Aouati Amel** Docteur à la faculté de médecine à l'université Saleh Boubnider qui a dirigé ce travail, ça nous Sera jamais suffisant pour lui exprimer notre grande reconnaissance pour la Confiance qu'elle nous a accepté pour faire avancer ce travail, pour son savoir de Biologiste, sa patience et sa gentillesse.*

*Mention spéciale a : **Dr Hamra karoua** .S aussi bien pour ses précieux Conseils Et son aide et pour leur encouragement, Nous avons l'honneur De vous exprimer nos très profondes reconnaissances et nos sentiments les plus sincères.*

*Nous voudrons bien remercier du plus profond du cœur : **Melle BAKIRI Esma** docteur à la faculté des sciences biologiques et directrice du laboratoire de bio systématique et écologie des arthropodes à l'université des frères MENTOURI Constantine qui nous a fait l'honneur de présider ce jury. Nous lui exprimons nos reconnaissances pour sa bienveillance, sa gentillesse et sa qualité humaine.*

*Nous voudrons bien remercier : **Mme AGUIB Sihem** docteur à la faculté des sciences biologiques et Dr du laboratoire de bio systématique et écologie des arthropodes à l'université des frères MENTOURI Constantine : Qui nous a fait l'honneur et d'avoir eu l'amabilité de lire et de juger ce travail.*

Nous ne saurons finir sans remercier tous les enseignants du département de Biologie de l'université de l'Université des Frère Mentouri Constantine, qui a Contribué à notre formation qu'ils trouvent ici notre respect et notre amour.

Un grand merci pour tous ceux qui ont participé de près ou de loin de la réalisation de ce mémoire, qu'ils trouvent ici l'expression de toute notre gratitude.

Dédicace

Au nom du dieu, le plus puissant le plus généreux, que son salut et son paix soit sur
Mohammed avant tout

C'est avec un grand plaisir que je profite cette occasion pour que je dédie ce travail a tout
ceux que j'aime, et ceux qui m'ont aidé au parcoure de mes études de loin ou de
près :

A mon père **TALEB AZZEDINE**, l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien
moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussi.

A ma mère **CHAOUA NADJAT** la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme
de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore.

A mon partenaire dans cette vie, l'homme de ma vie, mon soutien moral et source de joie et
de bonheur, mon marie **AHMED BOUCHERIBA**.

A ma vie, Le secret de mon bonheur, le baume pour mes blessures, la lumière de mes yeux,
ma chère fille **AMANI BOUCHERIBA**, je t'aime ma fille.

A mes chers frères, **KARIM ET SALIM**, Soutien dans cette vie.

A ma grande mère **YAMINA** .Dieu prolongera sa vie.

A mes tantes et mes oncles surtout **RAHWA** et **NADJIYA** et **MALIKA**.

A mes cousines **OMAYMA**, **MARYEM**, **ABLA**, **NORRA**, **KHAWLA** et tout ma grande
famille : **TALEB** et **CHAOUA**

A ma 2ème famille **BOUCHERIBA** et surtout **BABA ALMOUKHTAR**

A mes belles sœurs : **DJAMILA**, **HASSINA**, **NADJAT**, **LINDA** et surtout ma chère
FATIMA ZAHRA Elle m'a donné tout le soutien et l'aide de ma fille, et grâce à elle, j'ai
continué mes études.

A mes beaux frères : **MAHYIDINE**, **ABDLHAK**, **FAYCEL** et **HAFIDE**.

Aux nièces de mon mari **NESRINE**, **SOUNDOUS** et les neveux de mon mari.

Et bien sur mon binôme **BOUDEMAGH IMEN** ... merci pour vos conseils et vos
encouragements, mais aussi pour les bons moments qui ont Contribué à rendre ces années
inoubliable.

A tous mes amis surtout **MARWA**, mes proches, et mes camarades, surtout mes chères **OMAYMA**
et **ABIR** ainsi qu'à tous les étudiants de ma promotion. En souvenir

De tout ce qu'on a pu partager.

TALEB Ihssane

Dédicace

Je tiens à dédier ce modeste travail à :

Ma mère **HELEL WARDA** et Mon père **NACER** qui m'ont toujours

Soutenu et cru en moi, et qui m'ont donné la force, le courage, la patience et
L'optimisme continue. Je suis éternellement reconnaissante pour leurs sacrifices,
Leurs conseils, leur présence et leur tendresse. Que dieu vous accorde santé et

Longue vie.

Mes sœurs : **CHAIMA** et **YASSMIN** qui m'ont toujours encouragé pour tenir

Jusqu'au bout.

Mon petit frère : **MOUHEMED AKRAM**

A mon partenaire dans cette vie **GUECHI TAREK** ton aide et ton soutien en ce moment si
particulier de ma vie est un véritable cadeau. Mon cœur t'en est profondément
reconnaissant.

A mes tantes surtout **SAMIA**, mon oncle **CHAABAN**, mes cousines et mes cousins, Surtout
ma tante **Halima** et ses filles **MERZOUG SABAH** et **MERZOUG SORYA** et leurs fils qui
m'ont toujours donné de l'amour et de la motivation

A ma grande famille **BOUDEMEGH** et **HELEL**

Mon intime et ma sœur **BEN SAADALLAH LOUBNA** mon ami proche qui a été à mes
côtés tout au long de mon parcours académique et qui m'a soutenu dans tous mes moments de
faiblesse et a vécu avec moi tous pour mes moments. Merci d'avoir cru en moi et merci d'être
là pour ma vie.

Et bien sur mon binôme **TALEB IHSSENE** ... merci pour vos conseils

Et vos encouragements, mais aussi pour les bons moments qui ont

Contribué à rendre ces années inoubliables

A tous mes amis, mes proches, et mes camarades surtout **OMAYMA** et **ABIR**, ainsi qu'à
tous les étudiants de ma promotion en souvenir de tout ce qu'on a pu partager

Boudemegh Imen

Sommaire

Introduction	11
Chapitre I	18
Synthèse bibliographique	18
I_ Généralité sur les culicidae :	19
I_1_ Anatomie de <i>Culex pipiens</i> :	20
I_2_ bio-écologie de <i>Culex pipiens</i> :	24
I_3_ cycle de développement de <i>Culex pipiens</i> :	24
I_4_ Aspect nuisance et rôle vectoriel de <i>Culex pipiens</i> :	26
I_5_ Moyen de lutte contre les culicidae :	27
I_6_ Les différentes techniques d'extraction:	32
II_ Généralité sur la plante «<i>Rosmarinus officinalis</i>»	42
II-1_ définition :	42
II-2_ Description botanique :	43
II-4_ Pays d'origine :	43
II-5_ composition chimique :	44
Chapitre II	45
Matériels et Méthodes	45
I) Le matériel animal :	46
I-1_ Echantillonnage et élevage des larves de <i>Culex pipiens pipiens</i> Linné, 1758 : ..	46
II) Le matériel végétale :	47
II-1_ Récolte de la matière végétale :	47
II-2_ Séchage et Broyage du matériel végétal :	48
III) _ Préparation des extraits de la plante (<i>Rosmarinus officinalis</i> Linnée, 1753) : ..	48
IV) _ Les tests de toxicité :	53
CHAPITRE	58
III	58
RÉSULTAT	58
I_ Huile essentielle :	59
I-1_ Détermination de l'effet larvicide d'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> :	
59	
II_ Extrait aqueux :	59

II-1_ Détermination de l'effet larvicide de l'extraits aqueux de <i>Rosmarinus officinalis</i>	59
III_ Extrait hydroéthanolique :	60
III -1_ Détermination de l'effet larvicide de l' <i>extrait</i> hydroéthanolique de <i>Rosmarinus officinalis</i>	60
IV_ Extrait méthanolique :	61
IV-1_ Détermination de l'effet larvicide de l' <i>extrait</i> méthanolique de <i>Rosmarinus officinalis</i>	61
V_ Comparaison des taux des mortalités des larves de <i>Culex pipiens</i> exposés à l'extraits d'huile essentielle, à l' <i>extrait</i> aqueux, à l' <i>extrait</i> hydroéthanolique et à l' <i>extrait</i> méthanolique du romarin :	61
Chapitre IV	63
Discussion	63
Conclusion	66
Générale	66
Résumé	87
Abstract	88
الملخص	89

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 la représentation des concentrations des huiles essentielles de romarin **Error! Bookmark not defined.**

Tableau 02 les concentrations des extraits méthanoliques **Error! Bookmark not defined.**

Tableau 03 moyenne de mortalité (%) des larves de culex pipiens de 2 répétitions en fonction de la concentration d'huile essentielle (g:l) de R . officinalis végétales après 72 heures d'exposition **Error! Bookmark not defined.**

Tableau 04 mortalité (%) des larves de culex pipiens en fonction de la concentration des extraits aqueux (%) de romarin après 24 heures d'exposition **Error! Bookmark not defined.**

Tableau 05 mortalité (%) des larves de culex pipiens en fonction de la concentration des extraits aqueux (%) de romarin après 24 heures d'exposition **Error! Bookmark not defined.**

Tableau 06 moyenne de mortalité (%) des larves de culex pipiens de 2 répétitions en fonction de la concentration des extraits aqueux (%) de romarin après 24 heures d'exposition.60

Tableau 07 effet des deux concentration -test de l'extrait hydroéthanolique R. OFFICINALIS SUR LE POURCENTAGE DE MORTALIT² DES LARVES L4 de culex pipiens dans chaque période d'exposition (24,48et72h) **Error! Bookmark not defined.**

Tableau 08 mortalité (%) des larves de culex pipiens en fonction de la concentration des extraits méthanoliques de romarin après 72 heures d'exposition **Error! Bookmark not defined.**

Tableau 09 comparaison mortalité (%) des larves de culex pipiens en fonction de la concentration des extraits de huile essentielle, extrait aqueux, méthanolique et hydroéthanolique de romarin après 72 heures d'exposition **Error! Bookmark not defined.**

LISTE DES FIGURES

- Figure 01** Aspect des œufs de *Culex pipiens* **Error! Bookmark not defined.**
- Figure02** Les larves de *Culex pipiens* **Error! Bookmark not defined.**
- Figure 03** La tête de la larve de *Culex pipiens* **Error! Bookmark not defined.**
- Figure 04** La nymphe de *Culex pipiens* **Error! Bookmark not defined.**
- Figure 05** Morphologie générale de *Culex pipiens* adulte **Error! Bookmark not defined.**
- Figure06** Cycle de développement de *Culex pipiens* .26
- Figure 07** Montage de l'hydrodistillation.35
- Figure08** La méthode d'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau. 36
- Figure 09** La méthode d'hydrodiffusion **Error! Bookmark not defined.**
- Figure 10** Extraction par l'expression à froid **Error! Bookmark not defined.**
- Figure 11** la méthode d'extraction par solvant **Error! Bookmark not defined.**
- Figure 12** la méthode d'extraction par CO₂ supercritique **Error! Bookmark not defined.**
- Figure 13** la méthode d'extraction par micro-onde **Error! Bookmark not defined.**
- Figure 14** Extraction par ultrasons **Error! Bookmark not defined.**
- Figure 15** Présentation de la plante *Rosmarinus officinalis* 42
- Figure16** Présentation des feuilles et des fleurs du romarin 43

Figure 18 Présentation d'une cage d'élevage surmontée d'une boîte de pétri contenant du sang pour le repas des femelles **Error! Bookmark not defined.**

Figure 19 Photographie représentant le mixeur électrique utilisé **Error! Bookmark not defined.**

Figure 20 : Photographie représentant un dispositif reliant deux Soxhlet sur leurs chauffe ballons à un Cryothermostats à circulation 49

Figure 21 Photographie représentant un appareil Rotavapor50

Figure22 Séchage de l'extrait à l'étuve 51

Figure 23 Photographie représentant l'extrait hydro-éthanolique final 52

Figure24 Protocole de préparation de l'extrait méthanolique .53

Figure 25 Photographie représentant les tests toxicologiques56

Figure 26 Test de toxicité des extraits méthanolique sur les larves de *Culex pipiens*57

Liste des symboles et des abréviations

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

% : pourcentage.

g/l : gramme par litre.

h : heure.

ml : millilitre.

T : Température.

CO₂ : dioxyde de carbone.

CCM : couche mince.

g : gramme.

Cm : centimètre.

mm : millimètre.

Introduction

La diversité biologique est « la variabilité des organismes vivants de toute origine y compris, entre autres, les écosystèmes terrestres, marins et autres écosystèmes aquatiques et les complexes écologiques dont ils font partie ; cela comprend la diversité au sein des espèces et entre, les espèces et leurs écosystèmes». La conservation de la biodiversité passe obligatoirement par une parfaite connaissance de la distribution de la faune et de la flore (Lobo et al., 1997).

Les animaux désignés sous le nom d'Arthropodes constituent au sein des invertébrés, un embranchement intermédiaire entre les Vers et les Mollusques, et comprennent plusieurs classes. Ils constituent d'une part des problèmes de santé publique à l'échelle mondiale en étant des vecteurs de plusieurs agents infectieux et d'autres part une abondante source de nourriture pour de nombreuses espèces prédateurs, ce qui fait des Arthropodes un sujet d'étude important pour les entomologistes (Trari, 1991).

Appartenant à l'embranchement des Arthropodes, La classe des insectes constituent plus de 50% de la diversité de la planète (Wilson, 1988) et près de 60% de celle du règne animal (Pavan, 1986) prennent de plus en plus d'importance dans la recherche, les insectes jouent des rôles épidémiologiques variés, ce qui fait d'eux un problème majeur de santé publique (Berge, 1975 ; Jolivet, 1980).

Les Culicidae, communément connus sous le nom de moustiques, comptent aujourd'hui plus de 3200 espèces et une quarantaine de genres répartis presque partout dans le monde (Zerroug et al., 2017). On en trouve sur tous les territoires émergés avec une concentration toute particulière dans les régions tropicales et subtropicales. Cette famille contient les genres *Culex*, *Aedes* et *Anopheles* (Larhali et al., 2010).

L'espèce *Culex pipiens* L est le seul membre du complexe *Culex pipiens* présent en Afrique du Nord. La capacité de *Culex pipiens* à s'adapter à tous les biotopes (Hassaine, 2002 ; Faraj et al., 2006) lui permet d'être vecteur de plusieurs agents pathogènes responsables de maladies infectieuses parfois mortelles (Aouinty et al., 2006 ; Kosone et al., 2008 ; Guyatt et al., 1999) .Il sont des vecteurs potentiels

de maladies aussi bien pour l'homme que pour les animaux (Ghrabe et Bouattour, 1992).

Dans le monde, les espèces de moustiques notamment du genre *Culex* sont responsables de la transmission de maladies parasitaires telles la filariose, la fièvre jaune et le virus West Nile (El-Akhal *et al.*, 2015).

En Algérie, les plus anciens travaux réalisés sur les Culicidae d'Algérie remontent au siècle dernier, les recherches effectuées ensuite par (Clastrier, 1941) constituent avec les travaux de (Senevet et Andarelli (1954, 1956) une étape importante dans la connaissance de la faune Culicidienne Algérienne.

La faune Culicidienne d'Algérie a fait l'objet d'un grand nombre de travaux qui s'intéressent plus particulièrement à la systématique, la biochimie, la morphométrie, la lutte chimique et biologique à l'égard des moustiques (Bouabida *et al.*, 2012).

Le contrôle des moustiques d'intérêt médicale et vétérinaire, et la maîtrise de leurs impacts sur la santé publique, nécessite une bonne connaissance de l'écologie et du comportement de ces insectes, mais au préalable , il est indispensable d'effectuer un inventaire basé sur l'identification précise des espèces présentes dans une zone bien déterminé (Schaffner *et al.*, 2001).

Dans les campagnes de lutte anti-moustique, les insecticides utilisés ont été d'abords les organophosphorés, pyréthriinoïdes et carbamates de synthèse. Ces préparations, bien qu'elles se soient révélées très efficaces sur les moustiques, elles ont engendrés plusieurs inconvénients majeurs.

En effet, en plus de leur coût élevé, elles peuvent être à l'origine de divers problèmes environnementaux. Pour Barbouche *et coll.* (2001), l'accumulation significative de matières actives dans les concentrés traités, aquatiques et terrestres, causent un grand problème de pollution.

Par ailleurs, les substances actives des produits utilisés présentent un large spectre d'action et n'épargnent pas les organismes non cibles. À tous ces

inconvenients s'ajoute aussi un grand problème de développement de résistance aux insecticides chimiques, chez les insectes traités (Georghiou et al., 1975; Sinegre et al., 1977). Cette résistance se manifeste même pour l'organochloré DDT, pourtant réputé pour son effet choc et son extrême rémanence (Balkew et al., 2006).

Face à ces problèmes, il était urgent d'envisager l'utilisation de moyens alternatifs pour la lutte antivectorielle, en effet suite à ces conséquences néfastes, la recherche a élaboré d'autres méthodes alternatives aux insecticides chimiques (Kim et al., 2000), ce qui a conduit à l'utilisation de nouvelles molécules prenant en considération les paramètres biologiques, physiologiques et biochimiques des organismes vivants. Ces molécules sont sélectives, sans risques écotoxicologiques et surtout biodégradables (Rageau et al., 1980), et non toxiques pour les organismes non visés (Kostyukovsky et al., 2000).

La lutte biologique est une alternative et un élément de la stratégie de lutte intégrée définie mais difficilement mise en application. Le choix de la lutte biologique permet le plus souvent d'obtenir les meilleurs résultats pour un moindre coût de point de vue économique et sans risque sur l'environnement de point de vue écologique (Aouati, 2006).

Cette lutte se fait par l'utilisation de substances naturelles actives, non polluante, moins nocive et plus raisonnée. La lutte biologique prend diverses formes, par l'utilisation rationnelle de leurs ennemis naturels (Gaidi et Goucem, 2017) des bactéries : *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* et *Bacillus sphaericus*, du poisson larvicide *Gambusia affinis* (Bendali et al., 2001), et spécialement les substances naturelles des extraits de plantes.

Les substances naturelles comme les molécules bioactives issues des végétaux suscitent actuellement un intérêt tout particulier pour leurs multiples activités biologiques (antibactérienne, antioxydant et insecticides) tant appréciées dans le domaine de la santé humaine et de l'industrie alimentaire, pharmaceutique ou cosmétique.

D'après Rageau et Delaveau (1980) les extraits de plantes agissent de deux façons possibles ; une action larvicide pouvant causer une mortalité appréciable des larves en 1 à 12 jours, ou une action juvénile mimétique de l'hormone juvénile, avec allongement de la durée de la vie larvaire pouvant inhiber la nymphose.

Une étude réalisée par Mustafa et Al Khazraji (2008) révèle l'effet de trois extraits de plantes, *Azadirachta excelsa*, *Cleome glaucescens* et *Quercus infectoria* avec une mortalité maximale après 3 jours de traitement sur les premiers stades larvaires des moustiques. Une autre expérience faite par Koua et al. (1998), sur des larves d'*Anopheles gambiae* soumises à un extrait aqueux de *persea americana* présentent d'importantes lésions au niveau de leur intestin moyen. L'action de cette plante sur les cellules gastriques se traduit par une hypertrophie cellulaire après une heure d'exposition ; après deux heures de traitement, les formes cellulaires ne sont presque plus perceptibles (Koua et al., 1998). d'autres plantes ayant un effet insecticide, comme le ricin (*Ricinus communis*) L. et Thuya (*Tetrachinis articulata*) ont été utilisés comme biocide naturel dans le cadre de lutte anti-vectorielle (Aouinty et al., 2006).

Les expérimentations de Kaushik et Saini (2008) ont montré une activité larvicide des feuilles de *Millingtonia hortensis* qui agissent rapidement sur les larves des moustiques. Des changements sont observés dans le comportement général des larves ; ces dernières deviennent inactives juste après quelques heures de traitement. Cette plante est dès lors, un insecticide biologique naturel prometteur.

La toxicité de deux plantes *Lantana camara* et *Catharantus roseus* sur les larves de moustiques a été étudiée par Remia et Logaswamy (2009). Les résultats sont des changements de comportement des larves comme l'incapacité de ces dernières à remonter en surface suivi par un déséquilibre conduisant à la mort des larves.

En Algérie, Alouani et al. (2009) ont réalisés des tests sur des larves et des nymphes de *Culex pipiens* avec des extraits de *Azadirachta indica* Juss 1980 extrait du margousier (Neem) dans les conditions de laboratoire. Les auteurs rapportent une diminution remarquable de la fécondité des adultes, associée à une augmentation de la stérilité et une prolongation de la période larvaire.

Ces insecticides biologiques sont caractérisés par une innocuité écologique, par l'abondance de leurs matières premières dans certains pays et donc leur faible coût de fabrication, présentant ainsi un grand intérêt dans la protection de masse (Combemale, 2001).

Les bioinsecticides sont extraits de différentes manières, en effet les premiers extraits étaient obtenus par des méthodes très simples tels que l'infusion, la décoction, la macération de plantes. Aujourd'hui, cette activité fait appel à l'utilisation d'automates précis et de matériaux adaptés. Elle bénéficie des avancées en génie des procédés, en phytochimie et en analytique, ainsi que de nouvelles technologies d'assistance à l'extraction.

C'est dans cette perspective que s'inscrit ce travail relatif à la détermination de la toxicité de quatre extraits, en effet quatre méthodes d'extractions ont été choisies, puis soigneusement décrites, ensuite comparés entre elles, en terme d'effet larvicide et de mortalité. En ce qui concerne l'extrait végétal utilisé, notre choix s'est porté sur « *Rosmarinus officinalis* » communément appelé Romarin, pour toutes ces vertus médicinales décrites dans la bibliographie, ainsi que son rôle antiparasitaire, antifongique et anti vectorielle prouvé et publié dans de nombreuses études.

Les quatre méthodes d'extractions décrites dans cette étude ont aboutie à l'élaboration d'un extrait aqueux, d'une huile essentielle, d'un extrait méthanolique et d'un extrait hydro éthanolique..... d'une même espèce de plante précédemment suscités « *Rosmarinus officinalis* » et ceci dans le but d'évaluer l'effet toxicologiques des 04 extraits obtenus, sur les larves de l'espèce *Culex pipiens L* et de comparer leurs efficacité en terme de mortalité.

Notre choix s'est donc porté sur l'extrait d'huile essentielle du romarin étudié dans le mémoire de M^{lle}Bezzaoui ouarda; intitulé : Comparaison de l'efficacité des extraits aqueux et des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* (le Romarin) et de *Salvia officinalis* (la Sauge) avec un insecticide chimique la cyperméthrine sur les larves de *Culex pipiens* en conditions contrôlées.

Pour l'extrait aqueux nous avons choisi le mémoire de M^{lle} Meryem alaoui boukhris; intitulé: Activités larvicides des extraits de plantes sur les larves de moustiques vecteurs de maladies parasitaires.

Pour l'extrait hydroéthanolique nous avons choisi le mémoire de Mansouri fatima zohra et Messabhia hadjer ; intitulé: Etude de l'effet larvicide de l'extrait hydroalcoolique de *Rosmarinus officinalis* à l'égard de *Culex pipiens*.

Et finalement pour l'extrait méthanolique nous avons choisi le mémoire de Mme Guermit Asma et Melle Rhaim fatima zohra; intitulé: Contribution à l'étude de la toxicité de deux plantes médicinales (*Rosmarinus officinalis* et *Artemisia herba alba*) sur les larves de culicidés dans la région de Oued souf .

Cette étude comporte quatre chapitres d'égales importances, le premier chapitre est une introduction dans laquelle nous donnons un aperçu général sur les Culicidés, leurs nuisances, leurs rôles vectoriels ; les méthodes de lutte utilisées, les méthodes d'extractions et des généralités sur le romarin.

Le deuxième chapitre est réservé au matériel et méthodes utilisés et traite de l'élevage de *Culex pipiens*, de la préparation des extraits aqueux, des huiles essentielles, des extraits hydroéthanolique et méthanolique de la plante utilisée et des tests de toxicité.

Le troisième chapitre est consacré aux résultats obtenus de ces expérimentations, dans les 4 mémoires suscités, les résultats de ces derniers sont soumis à des analyses statistiques pour essayer de répondre aux objectifs fixés.

Dans le dernier chapitre, une discussion est rédigée traitant de la comparaison des taux de mortalité de chaque extrait de romarin. Le travail se termine par une conclusion et des perspectives.

Chapitre I

Synthèse

bibliographique

I_Généralité sur les culicidae :

Les moustiques sont des insectes qui appartiennent à la famille des Culicidae, Les Culicidae sont des insectes piqueur-suceurs de sang classée dans l'ordre des Diptères et du sous-ordre des Nématocères. La famille des Culicidés se divise en trois sous-familles, les Toxorhynchitinae, les Anophelinae et les Culicinae; (Matile, 1993; Brunhes et al. 1999).

Les moustiques sont des diptères primitifs de petite taille (3-10 mm), Ils sont caractérisés par leurs antennes longues et fines, la présence d'écailles sur les nervures de leurs deux ailes et leurs pièces buccales de type piqueur-suceur. Seules les femelles se nourrissent de sang et occasionnent donc des piqûres. Les mâles, quant à eux, sont inoffensifs et se nourrissent de sucres végétaux.

Culex appartiennent à la sous-famille des Culicinae., Le genre Culex est aussi divisé en plusieurs sous-genre dont le sous-genre Culex auquel appartient Culex poicilipes décrit pour la première fois par Theobald en 1903.

La classification de l'espèce *Culex pipiens* :

Règne : Animalia

Embranchement : Arthropoda

Sous-embr. : Hexapoda

Classe : Insecta

Ordre : Diptera

Sous-ordre : Nematocera

Famille : Culicidae

Genre : Culex

Espèce : *Culex pipiens*

I_1 Anatomie de culex pipiens :

Les Culicidae, auxquels appartient le complexe *Culex pipiens*, sont des insectes à métamorphose complète (Holométaboles) de sorte que les trois stades de développement (larve, nymphe et adulte) ont des morphologies différentes, donc la morphologie de chaque stade est suivant :

I_1_1 l'œuf :

Quelques jours après la fécondation, suivant les espèces, les œufs sont pondus par la femelle dans différents milieux. La ponte est perpendiculairement à la surface de l'eau, en nacelle (amas groupés) (Benkalfate, 1991).

Les œufs flottent à la surface de l'eau soit du fait des phénomènes de tension superficielle, grâce à la présence de flotteurs apicaux (*Culex*).

La taille d'un œuf est d'environ 0,5 mm, blanchâtres au moment de la ponte, les œufs s'assombrissent dans les heures qui suivent (Roth, 1980 ; Resseguier, 2011).



Figure01 : Aspect des œufs de *Culex pipiens*.

I_1_2 la larve :

Les larves de Culicidae se différencient des autres insectes aquatiques par l'absence de pattes, de taille (de 1mm à 1,5 cm); Elle est disposée obliquement par rapport à la surface de l'eau et se déplace par mouvements saccadés (Balenghien,

2006). ; Elle respire par un siphon. La larve évolue ainsi selon quatre stades pendant 8 à 12 jours, avant d'atteindre le stade nymphal.

Ces larves sont clairement constituées de trois parties ; la tête pourvue d'une paire d'antennes, des pièces buccales du type broyeur, un thorax plus large que la tête et l'abdomen (Dahl, 2000).

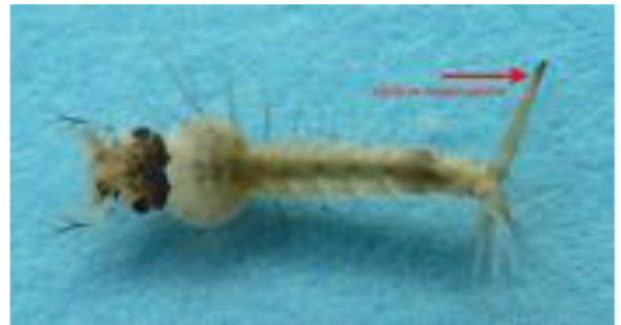


figure02. La larve de *Culex pipiens* (Aouati, 2016).

La tête est pourvue d'une paire des mandibules à pointes aiguës continuellement en activité et d'organes sensoriels : antennes, soies, palpes.



Figure03: La tête de la larve de *Culex pipiens* .

Le thorax de forme trapue, est dépourvu d'appendices, il est formé de 3 segments (Robert, 1989) qui constitue : le prothorax, le mésothorax et le métathorax.

L'abdomen Il est composé de neuf segments apparents. Les sept premiers sont à peu près semblables et peuvent porter des soies ou des sclérites ayant souvent une

importance taxonomique. Le huitième segment porter des organes respiratoires. Donc, les larves respirent l'air atmosphérique et utilisent également l'oxygène dissous dans l'eau grâce aux branchies qui terminent l'abdomen.

I_1_3_ La nymphe:

Son corps est formé d'un céphalothorax globuleux et d'un abdomen recourbé lui donnant la forme d'une virgule ou d'un point d'interrogation, est formée de huit segments dont le huitième est pourvu de deux palettes natatoires alors que le neuvième est atrophié (Rodhain&perez, 1985). Sur le sommet de la portion céphalothoracique se projettent deux trompettes respiratoires de formes très variables – souvent longues et cylindriques - équivalents physiologiques du siphon respiratoire de la larve.

Les organes comme les trompettes respiratoires, les antennes, les pièces buccales, les pattes, les ailes et des rudiments alaires méta thoraciques se forment très tôt chez la larve ; dès le premier stade larvaire, on remarque les yeux nymphaux en avant des yeux larvaires ; ces yeux se développent surtout au quatrième stade, quand ils se pigmentent (Snodgrass, 1959).



figure04 : La nymphe de *Culex pipiens*.

I_1_4_ L'adulte:

Présente une taille de 05 à 20 mm un corps composé de trois parties distinctes : tête, thorax, et abdomen. (Ben Malek, 2010).

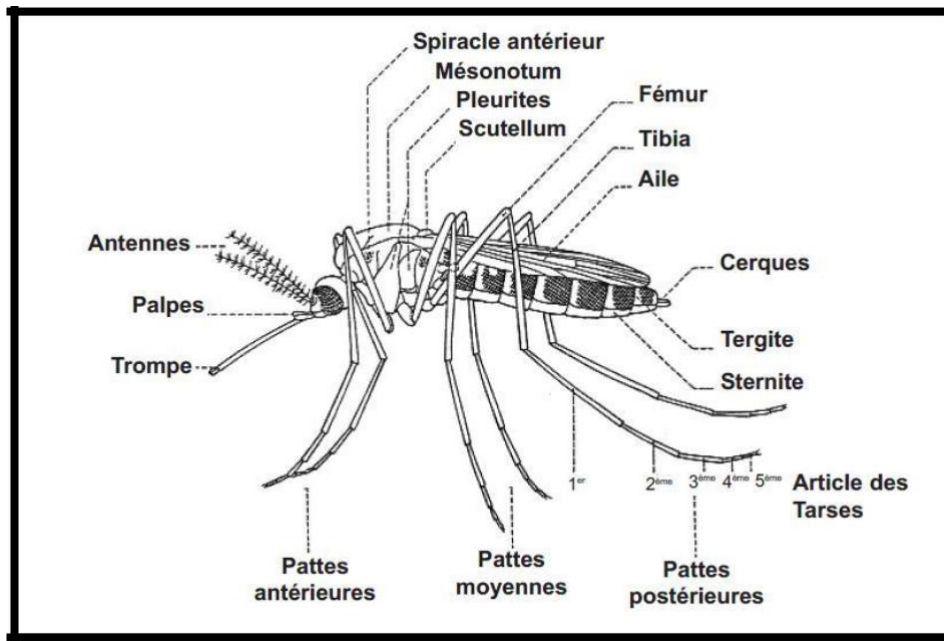


Figure05 : Morphologie général du *culex pipiens* adulte (Andreo, 2003).

La tête :

La tête des insectes est une capsule formée de plusieurs pièces unies par des lignes de suture. Elle comporte divers organes comme les yeux, les antennes, et des pièces buccales (la trompe).

Le thorax :

Assez globuleux, forme une structure rigide faite de la fusion de trois métamères. Métamère antérieur ou prothorax est très réduit, il porte la première paire de pattes. Le segment moyen ou mésothorax contient les volumineux muscles du vol, et occupe à lui seul plus de la moitié du thorax. Il porte la paire médiane des pattes et les ailes, le segment postérieur ou métathorax est également réduit, il porte la troisième paire de pattes et les baranciers ou hartères qui sont les homologues de la deuxième paire d'ailes.

L'abdomen :

Dans les deux sexes, l'abdomen comporte dix (10) segments .Il est mince et allongé, dont les neuvième et dixième formant les génitalia (ou hypopygium) assurant les fonctions sexuelles ; Chacun d'eux présente une partie dorsale (tergite) et une partie ventrale (sternite).

Les tergites et les sternites abdominaux sont ornés d'écailles constituant des caractères spécifiques, surtout chez la femelle.

I_2_bio-écologie de *Culex pipiens* :

C'est le cas de *Culex pipiens* Linné, 1758, très répandue dans le monde. Il est présent en zones tropicales et tempérées (Weill et al. 2003).

Selon Rioux et Arnold (1955) et (Sinègre et al.,1976), les larves de *Culex pipiens* se retrouvent dans les gîtes les plus divers des milieux urbain et périurbain, plus particulièrement ceux riches en matières organiques. *Culex pipiens* L. est une espèce qui se reproduit dans des habitats naturels et artificiels de différentes tailles (Savage & Miller, 1995),son développement dans certaines régions est continu pendant toute l'année.

Un écosystème est un système biologique formé par deux éléments indispensables et indissociables, la biocénose et le biotope (Dajoz, 1996).

I_3_cycle de développement de *Culex pipiens* :

Les moustiques passent dans leur cycle de vie, qui dure environ douze à vingt jours (Carnevale *et al.*, 2009), par plusieurs stades de développement, en deux phases (Yeed *et al.*, 2004). Les œufs, les larves et les nymphes sont aquatiques alors que, le stade adulte a une vie aérienne.

L'accouplement se produit dans les 48 heures suivant l'émergence des femelles et avant le premier repas sanguin. Après l'accouplement, la femelle part à la recherche d'un hôte pour se nourrir de sang nécessaire à la maturation des ovules. La ponte a lieu environ 5 jours après le dernier repas. *Culex pipiens pipiens* est de plus une espèce autogène, c'est-à-dire que la femelle est capable de pondre des œufs sans repas sanguin préalable (Benkalfate, 1991).

Les œufs sont pondus dans l'eau, claire en général, mais on en trouve également dans les eaux polluées, avec des matières organiques qui permettront aux larves de se nourrir.

Les femelles du genre *Culex* pondent plus d'une centaine d'œufs à la surface de l'eau sous forme de barquettes ou nacelle, Le nombre des œufs pondus peut atteindre le 300 selon les espèces (Urquhart, 1996) qui éclosent en 24 à 48 heures (Ripert, 2007).

L'éclosion des œufs donne naissance à des larves, qui passent par quatre stades distincts séparés par trois mues successives. La durée de cette phase larvaire varie selon les espèces de Culicidae, la température du milieu, la densité larvaire ainsi que la disponibilité en nourriture. Sa taille variera de 2 à 12 mm en moyenne en fonction des stades.

les larves ont un mode de vie exclusivement aquatique, d'une durée de 5 à 6 jours, elles subiront 4 mues avant de transformer en nymphe .

La nymphe ne se nourrit plus et de profondes modifications anatomiques s'opèrent, après 2 à 3 jours, l'adulte est complètement formé dans son enveloppe nymphale, le tégument se desséché au contact de l'air et il se forme une déchirure en T sur sa face dorsale sous l'effet de l'augmentation de la pression interne.

L'adulte dégage successivement son thorax, sa tête, ses pattes et son abdomen par une ouverture longitudinale sur le dos de la nymphe à la fin du stade nymphale.

Ce phénomène de l'émergence dure environ 15mn (Rodhain et Perez, 1985)

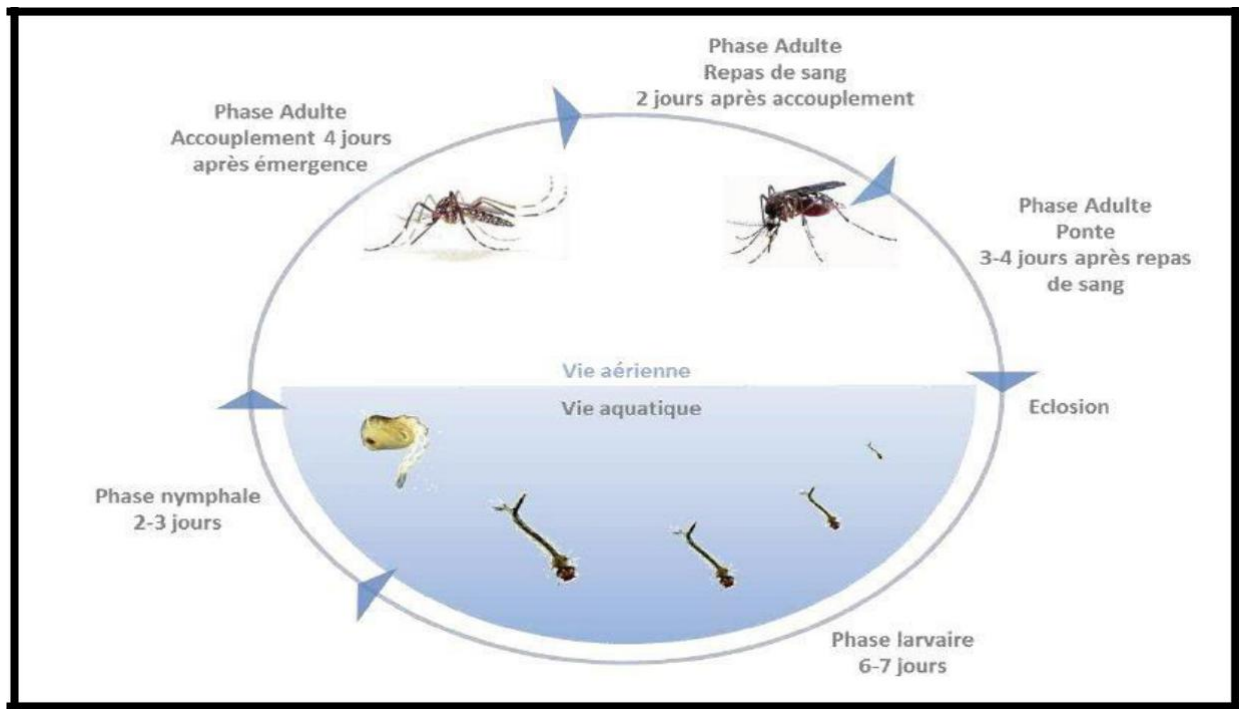


Figure06 : Cycle de développement de *Culex pipiens* (Poupardin, 2011).

I_4_ Aspect nuisance et rôle vectoriel de *Culex pipiens* :

Les moustiques sont des vecteurs d'agents pathogènes qui sont le plus souvent ; source de maladies graves (Aouinty et al, 2006; Kosone et al, 2008).

Parmi ces moustiques, certains sont source de nuisance pour l'homme, car difficilement supportable. C'est le cas de *Culex pipiens* (Linné, 1758), très répandue dans le monde. Sa capacité à s'adapter à tous les biotopes (Hassaine 2002 ; Faraj et al. 2006) lui permet d'être vecteur de plusieurs maladies infectieuses parfois mortelles (Guyatt et al. 1999).

L'espèce *Culex pipiens pipiens* est le seul membre du complexe *Culex pipiens* présent en Afrique du nord ; les maladies qu'il transmet sont la fièvre du Nil occidental, causée par le virus VNO (Virus du Nile Occidental), dont *Culex pipiens* et *Culex restuans* sont vectrices et qui interviennent dans l'amplification du cycle de transmission du virus aux oiseaux (Trari et al., 2003).

I_5_Moyen de lutte contre les culicidae :

La lutte anti vectorielle s'appuie sur un nombre important de méthodes qui varient selon les espèces visées, les contextes épidémiologiques. Les stratégies doivent tenir compte du système vectoriel, de la durabilité des actions et des coûts (Fontenille., 2008). La Lutte permet de développer des moyens qui visent soit à empêcher simplement la pique des moustiques et à éviter ainsi la transmission des maladies, soit à détruire carrément l'insecte en visant à la fois le stade adulte et les stades larvaires (Belhattab.A et Tektaki.A 2016.2017.in Samanidon *et al.*, 1993).

I_5_1_La lutte chimique :

La lutte chimique comprend l'utilisation d'insecticides pour diminuer l'abondance des vecteurs en ciblant un ou plusieurs stades de développement (larves, adultes).

Pour certaines espèces, il est préférable d'utiliser un produit larvicide, tandis que pour d'autres espèces, la lutte chimique sera plus efficace contre les adultes. Particulièrement efficaces, les insecticides sont néanmoins de plus en plus souvent utilisés en association ou en alternance avec d'autres moyens de prophylaxie afin de limiter les impacts négatifs sur l'environnement, mais aussi le développement de résistances chez les moustiques (Anses, 2013).

Les composés utilisés au début contre les organismes nuisibles étaient des pesticides de première génération relativement simple à base d'arsenic, de soufre, de chaux, de dérivés du pétrole, de substance à base de fluor ou extraite de plante comme la nicotine. Ces pesticides se caractérisent par leur toxicité relativement élevée pour les organismes non visés et surtout leur rémanence ou encore leur lente décomposition dans l'environnement (philogene ,1991).

Par la suite, les composés synthétiques de la deuxième génération ont évolué vers des insecticides regroupant différentes molécules appartenant à plusieurs familles chimiques (organophosphorés, carbamates, pyréthriinoïdes, bio-insecticides, etc.). Et ayant des modes d'action variés. Le choix d'utilisation des molécules dépendra, entre autres ; de trois paramètres clés relatifs aux vecteurs et aux produits :

La résistance du vecteur considéré aux produits envisagés ou disponibles. Ces résistances doivent donc être Précisément évaluées avant le début de toute campagne de lutte antivectorielle, mais aussi au cours de la campagne Pour pouvoir effectuer les changements éventuels nécessaires. Des comités d'experts de la lutte antivectorielle font le point de la situation.

Le comportement du vecteur : ces produits chimiques peuvent induire des modifications de comportement des moustiques (phénomènes d'irritation ou d'excito- 'éPulsivité) entraînant des processus d'évitement de la Surface traitée et limitant alors l'efficacité réelle du pro- duit.

L'influence du produit sur l'environnement (biodégradabilité), flore, faune et bien sûr, son absence de toxicité pour l'homme dans le respect des conditions d'emploi, ainsi que la nature de la surface traitée et la rémanence du produit qui conditionnent le rythme des traitements.

1_5_2 La lutte physique :

La lutte physique ou la lutte mécanique, consiste à limiter la population de moustique par des moyens plus ou moins techniques.

Elle consiste à modifier le biotope de l'insecte en supprimant tous les facteurs favorables à son développement. Cette technique est la plus anciennement connue, À l'assainissement du milieu urbain, une autre méthode de lutte physique complémentaire pourrait être adoptée ; c'est l'utilisation de billes de polystyrène dans les gîtes clos (Thierry, 2011).

Les moyens d'une lutte physique peuvent être aussi très simple comme la pose des moustiquaires aux fenêtres des habitations , l'emploi de produit répulsifs ou de vêtement adaptés.

La lutte physique contribue à rendre l'environnement hostile à la population de vecteurs par l'élimination des gîtes larvaires (drainage ,colmatage des cavités naturelles ,gestion des déchets ,des plans d'eau et des eaux usées ,etc) notamment en zones urbaines (fécherolle, 2008 ; fontenille *et al* ,2009; ANSES, 2011).

I_5_3 La lutte génétique :

La lutte génétique s'appuie sur la connaissance du patrimoine génétique du moustique afin d'en modifier une séquence. Ces manipulations ont pour but de limiter les populations de Culicidae par l'introduction de moustiques stériles ou porteurs de gènes létaux pour les générations suivantes :

La lutte génétique, comprenant le lâcher de mâles stériles (absence de fécondation des femelles hématophages) et la manipulation génétique femelles (insertion d'un fragment d'ADN) rendant le moustique inapte à transmettre une maladie : capacité vectorielle réduite. Cette méthode est cependant très coûteuse et souvent mal vécue par la population locale, ces lâchés en masse étant source d'importantes nuisances (Goislard,2012).

I_5_4 La lutte biologique :

Le terme "lutte biologique" recouvre différents concepts selon les disciplines impliquées dans la protection des cultures (Nordlund, 1996). Appelée aussi contrôle biologique ou biocontrôle, elle consiste en l'utilisation d'organismes vivants (ennemis naturel) ou de leurs produits pour prévenir ou réduire les dégâts causés par les organismes considérés comme nuisibles tels que les ravageurs des cultures, les vecteurs de maladies, les champignons phytopathogènes, les mauvaises herbes, etc. On peut considérer aussi comme agents de lutte biologique ; les prédateurs, les parasites ou agents pathogènes.

La faune prédatrice des larves de moustiques qui présente un réel intérêt en matière de lutte biologique se compose principalement de poissons et d'insectes prédateurs.

Les poissons larvivore tel que *Gambusia spp* (Walton,2007),originaire d'Amérique du Nord est utilisé depuis le début du siècle dans la plupart des systèmes écologiques propices à son développement, il existe par le monde 300 autres espèces recensées de poissons larvivores (Gerberich et Laird, 1968). Quant aux insectes prédateurs ; il y a les larves prédatrices de moustiques du genre *Toxorhynchites* (Focks, 2007), les larves de moucherons appartenant aux familles *Corethrellidae* et *Chaoboridae* (Mogi, 2007), Les hémiptères prédateurs spécialement la famille

des Notonectidae, des Coléoptères prédateur. On retrouve des espèces prédatrices de moustiques au sein de la famille des Dytiscidae et Hydrophilidae, Odonates prédateurs comme les espèces *Sympetrum frequens*, *Pistia striates* et *Crocothemis servilia* sont prédatrices des larves *d'Anopheles sinensis*, de *Mansonia* spp. et *d'Aedes aegypti* (Mogi, 2007), et aussi d'invertébrés comme l'espèce de copépodes (petits crustacés).

Tandis que, les organismes pathogènes ou parasites sont potentiellement plus intéressants dans le contrôle biologique des moustiques que les entomophages (Chapman 1974; Lacey et Undeen 1986; Becker et al. 2010; Abdul-Ghani et al. 2012) et qui comprend :

Les nématodes parasites et se sont des insectes appartiennent à la famille des Mermithidae, le système taxonomique actuel place l'ordre des Mermithida dans la classe des Enopleia (De Ley et Blaxter, 2002), où l'on rencontre la majorité des nématodes parasites des insectes.

Les microsporidies sont des champignons, ou du moins des organismes qui en sont très proches, et la plupart sont des parasites. Ils forment des spores qui pourraient être libérées en masse pour infecter les moustiques.

Les champignons la susceptibilité des larves de moustiques aux champignons pathogènes appartenant aux genres tels que *Lagenidium*, *Coelomomyces*, *Culicinomyces*, *Beauveria*, *Metarhizium* et autres a été largement étudiée (Scholte et al., 2004 ; Luz et al., 2007).

Le premier virus pathogène des moustiques a été découvert en 1963; il s'agit d'un densovirus putatif de *Culex tarsalis* qui a été identifié en Californie (Kellen et al, 1963), il existe 5 grands groupes de virus entomopathogènes : iri-dovirus, baculovirus, poxvirus, parvovirus et reovirus (Sokolova, 1983).

Les bactéries *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* et *Bacillus sphaericus* sont les bactéries les plus connues et les plus utilisées pour lutter contre les larves de moustiques.

On distingue généralement trois stratégies de lutte biologique :

1-La lutte classique : c'est la pratique d'importer et de libérer pour établissement des ennemis naturels pour contrôler un ravageur (exotique) introduit, bien qu'elle soit également pratiquée contre les insectes ravageurs indigènes.

2-La lutte biologique augmentative: consiste à augmenter la taille des populations d'ennemis naturels, soit par des lâchers massifs (lutte inondative) ou par lâchers en petite quantité, l'auxiliaire devant s'établir, se multiplier et coloniser une zone donnée (lutte inoculative).

3. Lutte biologique par conservation: méthodes favorisant l'action des ennemis naturels déjà présents dans le système.

1_5_5_Les biopesticides :

Parmi les méthodes de lutte biologique, les biopesticides occupent une place de choix car ils se prêtent souvent à la production de masse requise pour l'industrie et ils s'appliquent avec un pulvérisateur conventionnel.

Jusqu'ici, la définition d'un biopesticide présenter des différences chez les scientifiques, Pour certains, ce vocable correspond uniquement à l'utilisation d'organismes vivants (auxiliaires, prédateurs, parasitoïdes ou pathogènes). D'autres estiment qu'il peut s'appliquer aux composés d'origine biologique (phéromones, kairomones, éliciteurs...) qui jugulent des populations de ravageurs ou de pathogènes. Ainsi, même s'il n'existe aucune définition officielle, dans le domaine de l'agriculture, les biopesticides pourraient être définis de la manière suivante : « Organismes vivants ou produits issus de ces organismes ayant la particularité de limiter ou de supprimer les ennemis des cultures »).

Les biocides sont une alternative aux produits chimiques de synthèse utilisés pour lutter contre les ravageurs dans les champs de cultures et d'autres environnements de production. Ils sont également moins toxiques qu'ils ne le sont. Son coût est relativement inférieur à celui des pesticides chimiques. En outre, l'utilisation de

ces pesticides existe depuis l'Antiquité, c'est-à-dire le 7^e siècle av. J.-C., des fermiers chinois utilisaient des plantes comme *Illicium lanceolatum* pour protéger leurs cultures contre les insectes (Leng et al., 2011). De même, au Moyen-Âge, des végétaux comme les aconits étaient utilisés contre les rongeurs et des récits indiens.

On distingue généralement deux types de biopesticides : ceux qui sont à base d'organismes vivants et ceux qui sont à base de substances biologiques naturelles. La première catégorie, comprend des biopesticides microbiens identifiés avec des micro-organismes (virus, bactéries, champignons). Ils agissent plus comme bio-agresseur et des biopesticides animaux représenté par les Prédateurs, parasites ou molécules extraites d'animaux agissant contre les ravageurs. C'est aussi les signaux et molécules qui peuvent être émis par des animaux (appelés « semio-chimiques ») pour créer la confusion et les repousser.

La deuxième catégorie concerne les substances naturelles et est principalement destinée aux végétaux.

C'est un ensemble large de produits phytopharmaceutiques de natures différentes. Cet ensemble varie entre des produits à base d'extraits de plantes non transformés à des produits subissant de multiples transformations. Quelques exemples: azadirachtine, pyréthrine, huiles végétales, ...

Les composés secondaires des plantes sont réputés depuis l'antiquité pour leurs propriétés pharmacologiques et depuis quelques décades l'homme s'intéresse également à leurs autres activités biologiques. En particulier, ces composés secondaires sont souvent considérés comme étant un moyen de défense de la plante productrice contre divers organismes comme les pathogènes et les ravageurs.

I-6_ Les différentes techniques d'extraction:

De nos jours, la tendance de l'utilisation des produits naturels issus des plantes est en pleine croissance face au soucis des effets secondaires des composés synthétiques qui peuvent être nocifs à la santé humaine et à l'environnement. L'application de ces derniers dans différents secteurs industriels (agroalimentaire, insecticide, parfumerie, cosmétique) peut causer des effets mutagènes,

cancérogènes l' et toxiques sur la santé humaine et augmenter le taux de pollution dans la nature.

Alors l'homme s'est tourné vers l'utilisation d'alternatives à ces médicaments pour éviter ses effets néfastes sur sa santé, trouvés dans l'utilisation des plantes et ses extraits présentent de nombreux bienfaits, c'est-à-dire un retour à la nature et c'est pourquoi de nombreuses sociétés pharmaceutiques se sont lancées dans une tentative de produire des types d'extraits basés sur un groupe d'herbes médicinales étudiées une étude scientifique avec des doses thérapeutiques et toxicologiques (Baraka et Al-Zakrawi, 2012).

L'utilisation des extraits de plantes comme insecticides est connue depuis longtemps, en effet le pythre, la nicotine et la roténone sont déjà connus comme agents de lutte contre les insectes. D'après Jacobson (1989), plus de 2000 espèces végétales possèdent une activité insecticide sont déjà identifiées .

Les premiers extraits étaient obtenus par des méthodes très simples tels que l'infusion, la décoction, la macération..... Aujourd'hui, cette activité fait appel à l'utilisation d'automates précis et de matériaux adaptés. Elle bénéficie des avancées en génie des procédés, en phytochimie et en analytique. De plus, de nouvelles technologies d'assistance à l'extraction et parmi les méthodes d'extractions :

I-6-1_L'extraction par Macération :

Très simple, cette préparation s'obtient en mettant les plantes en contact, à froid, avec un liquide quelconque. Ce liquide peut être du vin (vin de Gentiane), de l'alcool (alcoolature d'Ail, teinture de Boldo), de l'huile (huile de Serpolet). Le temps de contact est parfois très long. Les macérations à l'eau, plus rarement employées, car elles ont l'inconvénient de fermenter facilement, ne doivent pas, de toute manière, excéder une dizaine d'heures (Gildemeister et Hoffmann, 1919).

I-6-2_L'extraction par décoction :

Cette préparation s'opère en faisant bouillir les plantes, le plus souvent dans de l'eau, parfois dans du vin (alcool). Elle convient surtout aux écorces, aux racines,

tiges et fruits. On laisse bouillir pendant un temps plus ou moins long selon les espèces, en général de 10 à 30 minutes. Pour extraire le plus possible de principes actifs, il faut avoir soin de couper les plantes en menus morceaux, puis de passer la tisane en exprimant.

Par exemple, c'est par la décoction que sont traités les racines de Patience et de Chicorée, les feuilles et les fruits d'Épine-vinette, l'écorce de Bouleau, la tige de Douce-amère.

I-6-3_ L'extraction par infusion :

L'infusion consiste à mâtre la plante dans l'eau bouillante, et de la laisser infuser pendant quelques minutes, cette méthode est utilisée dans la préparation de beaucoup de médicaments traditionnels, et même dans la préparation du thé.

I-6-4_ L'extraction par Soxhlet :

L'extraction par Soxhlet est une méthode bien établie et simple qui a été employée pendant longtemps, et qui dépasse en performance les autres techniques conventionnelles d'extraction, excepté dans le cas de l'extraction des composés thermolabiles (Luque Castro and Garcia-Ayuso 1998), le Soxhlet est un appareil de chimie analytique qui porte le nom de son inventeur: Franz Von Soxhlet.

Il utilise une colonne de distillation générant des vapeurs de solvant qui sont condensées; ce solvant pur et chaud alimente la cartouche contenant le végétal. Lorsque la cartouche est pleine, la solution obtenue (solvant et soluté) se vide automatiquement par siphonage (lixiviation) puis retourne dans le bouilleur où le solvant est de nouveau porté à l'ébullition. La lixiviation peut également être opérée par passage continu du solvant ou par vidanges manuelles successives. L'extraction par Soxhlet peut présenter quelques inconvénients : la taille de la cartouche étant limitée, il peut être indispensable d'utiliser plusieurs cartouches, ce qui fait perdre un temps précieux et l'inconvénient de l'extraction à chaud qui peut dégrader certaines substances chimiques.

I-6-5_ La Distillation :

La distillation à la vapeur d'eau est une méthode ancienne et très répandue pour l'extraction des huiles essentielles à partir des plantes aromatiques. Elle est simple dans son principe et utilise un équipement peu coûteux. Elle se présente sous trois (3) variantes : l'hydrodistillation ; l'entraînement à la vapeur et hydrodiffusio. (Silou *et al*, 2004).

I-6-5-1_ L'hydrodistillation :

Méthode d'extraction contrôlée normée par l'AFNOR Huiles essentielles, ainsi que contrôle qualité (1996, Maisonneuve), où la matière végétale souhaitée est immergée extrayez-y l'huile essentielle dans l'eau, puis tous sont soumis à la chaleur jusqu'à ébullition les températures élevées permettent l'explosion des cellules végétales et la libération de molécules aromatiques, ces fragments de particules aromatiques formant avec de la vapeur d'eau, mélange aqueux, mélange azéotropique, peut être distillé avec ou sans recyclage de l'eau, le principe du recyclage est généralement appelé cohobage.

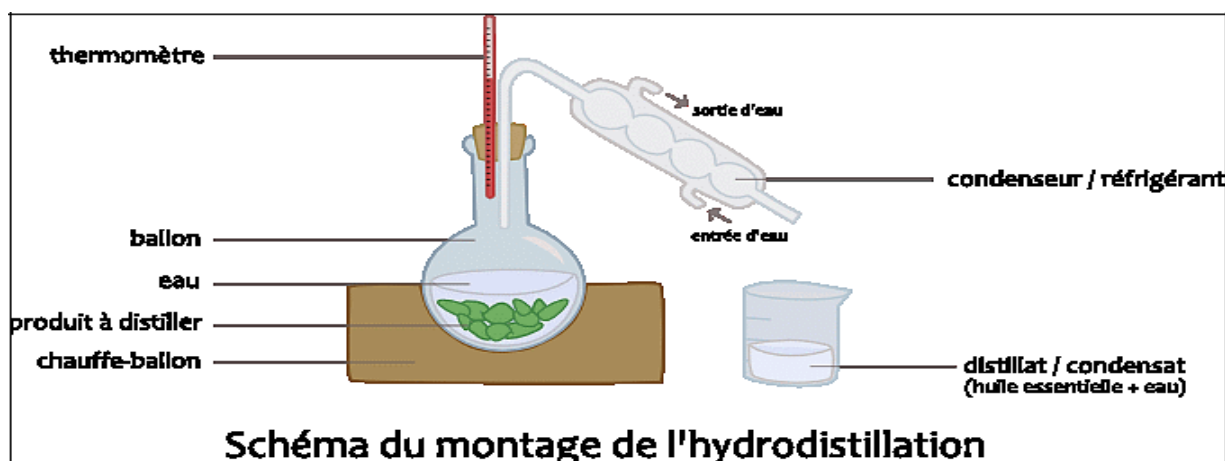


Figure 07: montage de l'hydrodistillation.

I-6-5-2_ l'entraînement à la vapeur :

Pour éviter certains phénomènes d'hydrolyse sur des composants de l'huile essentielle ou des réactions chimiques pouvant altérer les résultats, les techniciens ont mis au point le procédé de l'entraînement à la vapeur sèche.

Ce dispositif est composé d'une cuve dans laquelle on place les plantes à distillées, ces dernières sont dissociées de l'eau dans la même cuve. La cuve est chauffée et recouverte par un chapiteau qui est prolongé par un col de cygne, celui-ci est raccordé à un serpentin de refroidissement. Pour cela, celui-ci est plongé dans une cuve d'eau froide. Le serpentin débouche sur l'essencier, muni de deux robinets. Celui du bas permet de recueillir l'hydrolat ou eau florale et celui du haut l'huile essentielle.

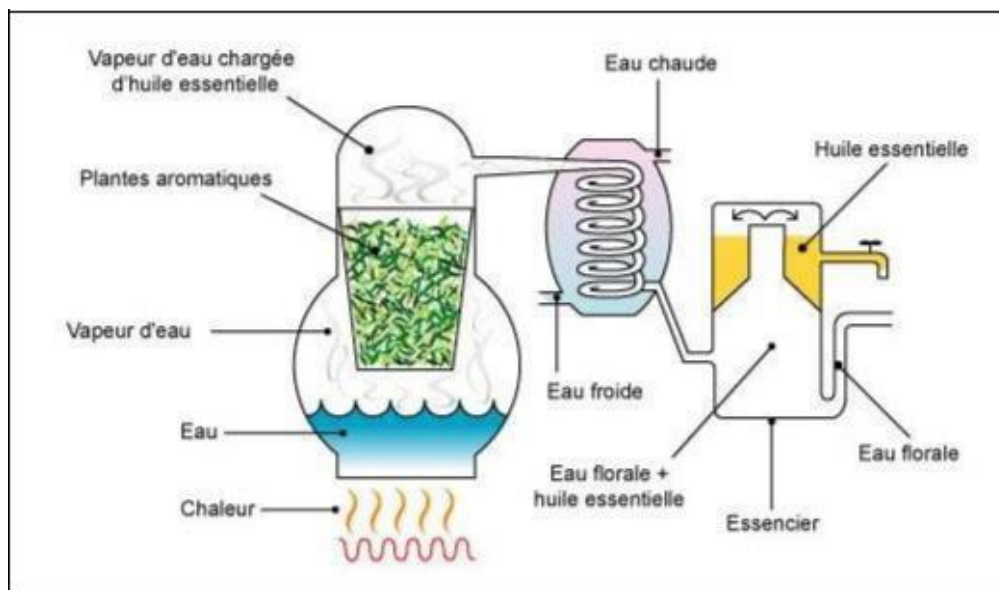


Figure08. La méthode d'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau.

I-6-5-3_ L'hydrodiffusion :

D'après (Acquaronne et al, 1998) le terme hydrodiffusion est attribué au type de transport contrôlé par la polarité des constituants. Consiste à pulser de la vapeur d'eau à faible pression «0.02-0.15 bar» à travers la masse végétale, de haut vers le bas. La composition des produits obtenus est qualitativement différente de celle des produits obtenus par les méthodes précédentes. Ce procédé permet un gain de temps et d'énergie (Brune).

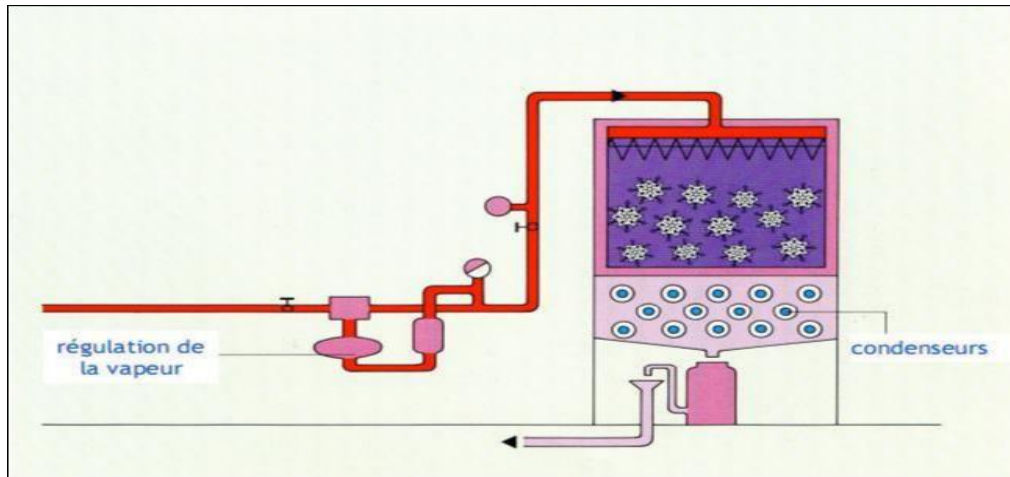


Figure 09: la méthode d'hydrodiffusion.

I-6-6_L'expression à froid :

Est une méthode d'extraction qui s'effectue sans chauffage utilisée uniquement pour les agrumes, en raison de la localisation de leurs huiles essentielles, il suffit de procéder à une forte pression hydraulique de la substance végétale. L'huile essentielle contenue dans de petites glandes du zeste est alors séparée du jus de son fruit par un système mécanique.



Figure 10: Extraction par l'expression à froid.

I-6-7_Extraction au moyen de solvants :

Certains organes de végétaux, en particulier les fleurs, sont trop fragiles et ne supportent pas les traitements par entraînement à la vapeur d'eau ou l'hydrodistillation. C'est le cas des fleurs de jasmin, d'œillet, de tubéreuse...

Il faut donc, pour ces végétaux, recourir à d'autres méthodes d'extraction des composés odorants volatils telles que l'extraction par les solvants fixes (extraction par les corps gras ou enfleurage) et volatils (extraction par l'hexane) (Garnero, 1996).

I-6-7-1_ Extraction par solvant :

L'extraction par solvant consiste à dissoudre la substance contenant l'huile essentielle recherchée dans un solvant, puis à éliminer le solvant et récupérer l'huile essentielle. On l'utilise sur des plantes telles que la rose, la violette, la fleur d'oranger, le jasmin, la tubéreuse, les jonquilles, la cassie ou le réséda. Tout d'abord, on met en contact le solvant et l'espèce végétale dans des cuves appelées extracteurs. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. Le produit ainsi obtenu est appelé « concrète ». Cette concrète pourra être par la suite brassée avec de l'alcool absolu, filtrée et glacée pour en extraire les cires végétales. Après une dernière concentration, on obtient une « absolue ». Les rendements sont généralement plus importants par rapport à la distillation et cette technique évite l'action hydrolysante de l'eau ou de la vapeur d'eau.

Avant, les solvants les plus utilisés étaient le benzène et dichlorométhane mais ils ont été interdits car jugés comme cancérigènes. Désormais, c'est l'hexane que l'on utilise le plus couramment car il est très volatil (masse molaire pas trop élevée).



Figure 11: la méthode d'extraction par solvant

I-6-7-2_ L'enfleurage :

L'enfleurage est une ancienne méthode utilisée pour l'extraction des plantes aromatiques destinées surtout à la parfumerie.

Il utilise plusieurs types de graisses végétales et animales et l'extrait dépend de la mise en place de couches alternées de matière lipidique pour collecter l'huile essentielle dans la matière lipidique car les composés aromatiques ont la capacité d'être solubles dans les lipides et en utilisant de l'alcool, on extrait de l'huile volatile utilisée notamment dans le cas des plantes dont les huiles volatiles sont présentes dans les fleurs.

I-6-8_Le CO2 supercritique :

L'extraction au CO₂ supercritique est une méthode industrielle permettant d'extraire des principes actifs en utilisant le CO₂ à une température et une pression qui lui permettent d'atteindre un état intermédiaire entre la phase liquide et la phase gazeuse. : Le CO₂ naturel (dioxyde de carbone, couramment appelé gaz carbonique) mis dans un état particulier qu'on appelle "supercritique". Il s'agit d'un état intermédiaire entre celui de gaz et de liquide, obtenu à des basses températures voisines de l'ambiante (la température critique est de 31°C) et à des pressions élevées (la pression critique est de 74 bars) mais facilement atteignables avec les technologies disponibles aujourd'hui. L'un des avantages du CO₂ supercritique, c'est qu'en baissant simplement la pression, on récupère le polymère fluoré directement sous la forme d'une poudre extrêmement pure, propre, et aux qualités supérieures à un polymère obtenu par voie classique. le produit à traiter est placé dans un extracteur traversé par le flux de CO₂ supercritique. Le fluide se charge en composé extrait, puis il est détendu, passe en phase gazeuse et se sépare du composé extrait. Ce dernier est recueilli dans un séparateur.

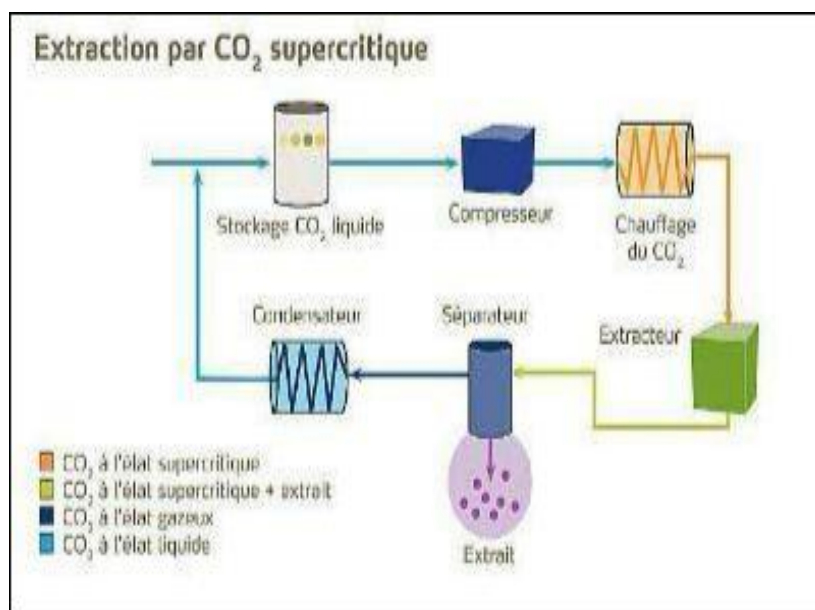


Figure12: la méthode d'extraction par CO₂ supercritique.

I-6-9_Extraction par microondes :

Cette méthodes permet de facilité la récupération des huiles essentielles ; ceci grâce au chauffage par micro-ondes qui fragilisent les structures enfermant les huiles essentielles facilitant ainsi leur libération ;(Mompon, 1994 ; Brian ,1995),c'est a dire l'absorption par l'eau, présente à l'intérieur des tissus, de l'énergie libérée par les micro-ondes provoquent la des chorption des composé simiques de la matrice vers le solvant. De plus, la migration des ions dissouts augmente la pénétration du solvant dans la matrice, facilitant également le relargage des composés chimiques.L'extraction micro-ondes peut être directe ou assistée à la vapeur, à l'eau ou à un solvant, sous pression ou sous vide, sous atmosphère p contrôlée (azote).

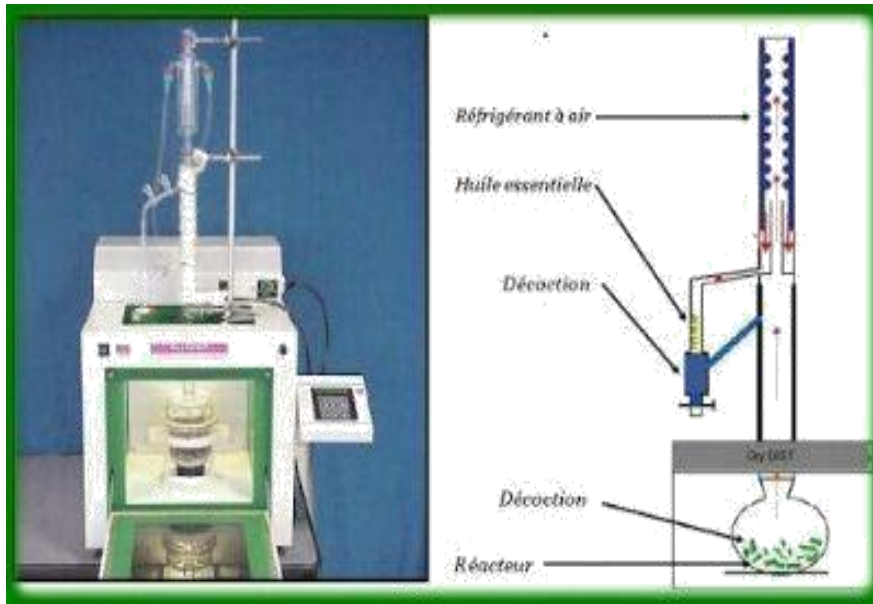


Figure 13: méthode d'extraction par micro-onde.

I-6-10_L'extraction par ultrasons :

Les extractions par ultrasons de puissance et basses fréquences (20 kHz à 100 kHz) sont connues pour avoir des effets significatifs sur la cinétique de la réaction, favorisant la réduction du temps d'extraction et de l'augmentation des résultats. Les ondes sonores génèrent des vibrations mécaniques dans un solide, un liquide ou un gaz. La différence des ondes électromagnétiques, les ondes sonores peuvent propager dans une matière et elles impliquent des cycles d'expansion et de compression lors de la propagation dans le milieu. L'expansion peut créer des bulles qui se forment, se développent et s'effondrent dans un liquide. Près d'une surface solide, l'effondrement de cavité est asymétrique et produit un jet de liquide à grande vitesse.

Le Jet liquide a un fort impact sur la surface (Luque-Garcia et Luque de Castro, 2003). Puisque les glandes des huiles essentielles sont présentes à la surface des plantes aromatiques, l'implosion des bulles de cavitation détruit les glandes qui libèrent l'huile dans le milieu environnant (Veillet, Tomao, & Chemat, 2010). Elle permet de pallier à certains problèmes rencontrés par la distillation conventionnelle telle que la dégradation thermique due aux températures élevées,

la grande consommation d'eau, les longues durées d'extraction et les résultats faibles (Da Porto, Decorti, & Kikic, 2009).



Figure 14 : Extraction par ultrasons.

II_Généralité sur la plante «*Rosmarinus officinalis*»

II-1_ définition :

Le romarin est l'une des herbes les plus appréciées et cultivées à travers le monde dans de nombreuses régions (Gineste, 2010).

Le romarin est un arbrisseau vivace qui appartient à la famille de lamiacées, Scientifiquement, on le connaît sous le nom de *Rosmarinus*, mais il est plus communément appelé encensier, romarin des troubadours, herbe aux couronnes, ou encore rose marine, rose des marins, rose de la mer. Il se caractérise par des fleurs qui prennent différents tons, compris entre le bleu pâle et le violet. Le romarin est originaire du bassin méditerranéen.



Figure 15 : photographie représentant *Rosmarinus officinalis*

II-2_ Description botanique :

Cette plante appartient à la famille des Labiées. Elle se présente sous forme d'arbuste, sous arbrisseau ou herbacée, mesurant environ de 0.8 à 2 m de hauteur.

Les feuilles sont étroitement lancéolées linéaires, faibles et coriaces, les fleurs bleue pale, maculées intérieurement de violet sont disposées en courtes grappes denses s'épanouissent presque tout au long de l'année (BENIKHLEF, 2014).

Le fruit est un tétrakéne lisse et globuleux, brun foncé, de 2,3 mm de long, La floraison à lieu de mai à juillet (Eberhard et al, 2005).



Figure16 : Photo des feuilles, et des fleurs du romarin.

II-4_ Pays d'origine :

Il est présent dans le sud de l'Europe, notamment les régions côtières de la mer Méditerranée : l'Espagne, le sud de la France, l'Italie, la Grèce, la Turquie, le Maghreb (du Maroc à la Tunisie), ainsi que les régions du Caucase (Eberhard et al, 2005). Le romarin se développe sur les sols calcaires des collines de faible altitude et des garrigues en particulier en France et en Afrique du nord (Rombi et al, 2007) Originnaire des régions méditerranéennes.

On le cultive dans le monde entier à partir de semis ou de boutures au printemps. Il apprécie les climats chauds, modérément secs, les branches récoltées pendant l'été sont séchées à l'air et à l'ombre.

II-5_composition chimique :

L'analyse phytochimique des extraits d'acétate d'éthyle et de n, hexane de *Rosmarinus officinalis* révèle la présence de plusieurs constituant : les diterpènes, les flavonoïdes, les acides triterpéniques et l'acide rosmarinique (Vassiliki et al, 2013).

L'huile essentielle du romarin (1 à 2 % dans la plante) contient : de l' α -pinène (7 à 80 %), de la verbénone (1 à 37 %), du camphre (1 à 38 %), de l'eucalyptol (1 à 35%), du bornéol (4 à 19 %), de l'acétate de bornyle (jusqu'à 10 %) et du camphène (Rombi, 2007). En plus de l'huile essentielle on trouve dans le romarin : 2 à 4 % de dérivés triterpéniques tels que : l'acide ursolique, l'acide oléanolique, l'acétate de germanicol; des lactones diterpéniques : picrosalvine, dérivés de l'acide carnosolique, rosmanol, rosmadial, des acides phénoliques , des acides gras hydroxylés surtout des dérivés de l'acide décanoïque , des acides gras organiques : L'acide citrique, glycolique et glycérique, des stérols, de la choline, du mucilage (Hans et Kothe, 2007) et de la résine (Beloued, 1998). Le criblage phytochimique de l'extrait éthanolique des parties aériennes du romarin a indiqué la présence des flavonoïdes, des tannins et des saponines, et l'absence des alcaloïdes détecté dans l'extrait aqueux. Les flavonoïdes détectés par la chromatographie sur couche mince (CCM) sont la quercétine et le kaempférol (Belhattab .A. et Tektaki .A.2014.2015 in Géead, 2014).

Chapitre **II**

Matériels et Méthodes

I) Le matériel animal :

L'espèce animales sur laquelle les tests ont été réalisé est *Culex pipiens*.

I-1_ Echantillonnage et élevage des larves de *Culex pipiens pipiens* Linné, 1758 :

Le plan d'échantillonnage adopté consiste à réaliser des pêches larvaires en prospectant dans des collectes d'eau naturelle ou artificielle, des marres et aussi dans des gîtes artificiels volontairement. La collecte des larves est réalisée à l'aide de louches d'une contenance de 500ml en diversifiant le plus possible les points de prélèvement, le contenu de la louche est versé à chaque fois dans des récipients, qui seront par la suite transporté soigneusement au laboratoire.

Au laboratoire, les larves de moustiques récoltés des sites d'échantillonnages sont triées par stade larvaire puis transférées dans des récipients (bacs) contenant une eau déchlorurée et nourries avec un mélange à 75% de poudre de biscuit et 25 % de levure sèche car la levure permet un apport de protéines, de glucides et de vitamine B (Andrean et al., 1981), l'eau du récipient doit avoir une température moyenne d'environ 25°C (OMS, 1963) et elle est renouvelée tous les deux à trois jours. Lorsque les larves atteignent le stade nymphal, elles sont placées dans d'autres récipients et disposées dans une cage où elles se transformeront en adulte.



Figure17 : méthodes d'élevage des larves.

Lorsque les larves atteignent le stade nymphale, ces dernières sont placées dans des cages cubiques (40x40x40 cm) recouvertes d'un tulle avec une ouverture fermée par une épingle pour faciliter le retrait des bacs. Sur les cages un repas sucré est placé pour les mâles (raisin sec) et un repas sanguin pour les femelles (environ 5 ml) de sang mélangé à de l'héparine (pour éviter la coagulation du contenu)

sanguins). Le sang hépariné est déposée dans une petite boîte de pétri en verre recouverte d'un film plastique alimentaire que l'on étire.

Cette boîte de pétri est alors placée sur la face supérieur de la cage, de manière à ce que le film alimentaire soit au contact du tulle. Ce procédé décrit par Enserink (2006) permet aux femelles de piquer le film afin de s'y alimenter. Par ailleurs, des pondoirs sont placés à l'intérieur des cages pour l'incubation des œufs en prenant soin de changer régulièrement l'eau tous les trois jours.



Figure 18 : Présentation d'une cage d'élevage surmontée d'une boîte de pétri contenant du sang pour le repas des femelles.

II) Le matériel végétale :

Le matériel végétal est constitué de romarin (*Rosmarinus officinalis* L).

II-1_Récolte de la matière végétale :

La récolte est généralement effectuée au printemps, ensuite les plantes sont triées au laboratoire, Les feuilles des plantes sont prélevées de leurs tiges à l'aide d'un ciseaux, puis sont lavées à l'eau et séchées à l'air libre pendant 24h ou plus.

II-2_ Séchage et Broyage du matériel végétal :

Les feuilles de la plante ainsi séché est placée dans une étuve pendant 4 jours (96h) à 40°C (Aouinty et al, 2006) afin de les dessécher complètement. Elles sont ensuite broyées à l'aide d'un mixeur électrique pour en obtenir une poudre fine.

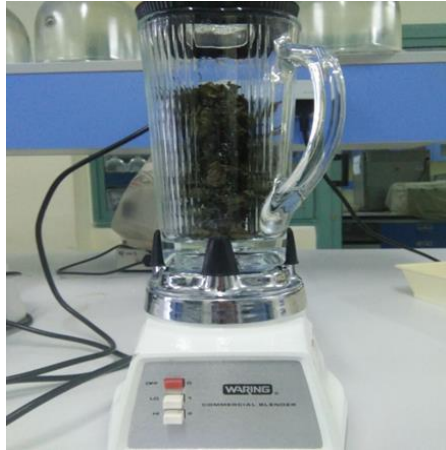


Figure 19 : Photographie représentant un mixeur électrique.

III) _ Préparation des extraits de la plante (*Rosmarinus officinalis* Linnée, 1753) :

La plante *Rosmarinus officinalis* à été extraite de quatre manière différente afin d'obtenir un extrait d'huile essentielle, un extrait aqueux, un extrait hydroéthanolique et un extrait méthanolique).

III-1_L'extraction des huiles essentielles

III-1-1_Le principe :

La méthode de l'hydrodistillation à été utilisée pour l'extraction des huiles essentielle des feuilles de *Rosmarinus officinalis*.

Ce procédé consiste à placer la matière végétale dans un extracteur, ce dernier est relié à un ballon qui contient de l'eau et déposé sur un chauffe ballon, la vapeur envoyée dans l'extracteur, traverse la matière végétale et se charge d'huile essentielle, elle passe ensuite dans le réfrigérant ou elle se condense. Le distillat est recueilli dans une ampoule à décantation pour séparer les deux phases.

III-1-2_La méthodologie :

L'eau d'un grand ballon de 5L rempli au 2/3 de son volume est portée à ébullition grâce à un chauffe-ballon, l'eau distillé se forme dans l'ampoule reliée au ballon, à partir de cette ampoule un courant important de vapeur d'eau est envoyé par l'intermédiaire d'un tube en verre vers un autre ballon contenant 200g de matière végétal sec ,Ce courant de vapeur d'eau se charge d'huile essentielle et se dirige vers un réfrigérant où il se condense, le condensat est recueilli dans une ampoule à décanter.

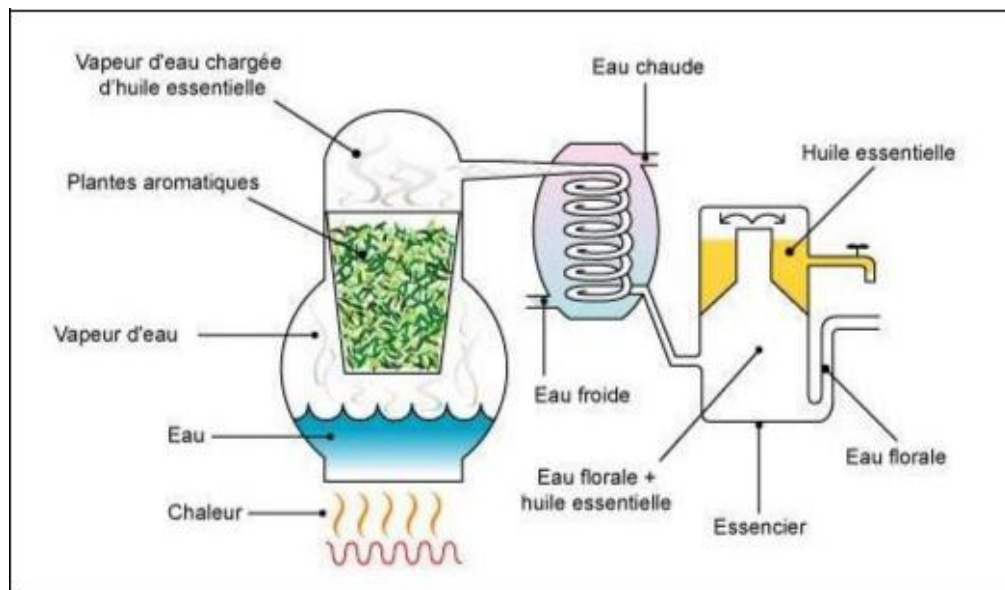


Figure 20 : Photographie représentant la méthodologie d'extraction d'une huile essentielle.

III-1-3_ Séparation des huiles essentielles :

La vapeur condensée obtenue conduit à une phase organique (huile essentielle) surnageant qui est séparée de l'hydrolat par décantation et à laquelle on ajoute du sulfate de magnésium(MgSO₄) pour éliminer les traces d'eau.

III-2_L'extrait aqueux :

III-2-1_Le principe d'extraction:

Le principe de cette extraction consiste à dissoudre la poudre végétale obtenue à partir de la plante entière (tiges, feuilles et racines) dans de l'eau distillée.

III-2-2_ Méthodologie :

La matière végétale (feuilles, tiges et bois) des plantes locales , traditionnellement utilisées contre des insectes, est préalablement lavée à l' eau distillée puis séchée dans une étuve portée à 40 °C pendant 48 h à 92 h. Elle est ensuite broyée à l' aide d' un mixeur jusqu' à sa réduction en poudre. Une quantité de 100 g de poudre de chaque plante est diluée dans un litre d' eau distillée préalablement portée à ébullition, puis laissée refroidir sous agitation magnétique pendant 30 minutes. Le mélange obtenu est filtré à l' aide du papier Whatman (3 MM). Le filtrat récupéré représente une solution stock initiale à 100 g par l soit 10 %.

Une évaporation sous vide au moyen d' un rotavapeur de type Stuart à 40°C est généralement nécessaire.



Figure 21 : Photographie représentant un appareil Rotavapor.

III-3_L'extrait hydroéthanolique:

III-3-1_Méthodologie :

La méthode d'extraction que nous avons adoptée est la macération successive par un solvant hydroalcoolique; il s'agit du 80% éthanol et 20% d'eau distillée pendant 48heures.

50 g de la poudre végétale est mise dans un erlenmeyer avec 400 ml de solvant. Le mélange est soumis à une agitation manuelle douce à l'aide d'une baguette en verre. Ensuite, nous fermons l'erlenmeyer et le laissons à température ambiante pendant 48 heures. La macération est répétée six fois par le même solvant et le même procédé.

A la fin de la macération on procède à une filtration des extraits hydroéthanolique pour les séparer de la matière végétale résiduelle en utilisant un entonnoir munit du coton hydrophile. Les filtrats ont été récupérés dans des flacons propres en verre.

Les filtrats sont additionnés et concentrés à sec par un évaporateur rotatif de type« Laborota.400.efficient ». Dans cet appareil on réalise une évaporation sous vide en utilisant une pompe à vide réglée à pression de 440 mmHg. Pendant l'évaporation le passage des filtrés a été fait par des petits volumes de 20 ml dans un ballon de 250 ml plongé dans un bain marie chauffé à une température de 58C° et mis en vitesse de rotation de 100 rtm. L'appareil est muni d'un réfrigérant avec un ballon de récupération de condensat. Après l'évaporation, l'extrait obtenu est placée à l'étuve à 45C pendant 15 jours pour éliminer le solvant et sécher l'extrait. Finalement la quantité d'extrait obtenue est pesée dans une balance de précision pour le calcul du rendement.



Figure22 : Séchage de l'extrait à l'étuve (photo originale)

Le procédé d'extraction (figure22) est répété deux fois dans les mêmes conditions afin d'augmenter la quantité de l'extrait nécessaire tout au long de l'expérimentation.



Figure 23 : Photographie représente l'extrait hydro-éthanolique final (Mansouri Fatima Zohra et Messabhia Hadjer;2017).

III-4_L'extrait méthanolique :

III-4-1_Méthodologie :

L'extrait méthanolique des deux plantes a été préparé à partir de 20 g de poudre des feuilles qui a été mise à macérer dans 200 ml de méthanol puis agiter sur un agitateur magnétique pendant 24 h. Ensuite la solution a été filtrée sur un papier filtre deux fois successive et le solvant a été récupéré du filtrat par évaporation dans un rota-vapeur, à une température de 45°C et Mélanger les résidus avec tween une fois les E.M obtenues, ils sont conservées dans un flacon en verre qui est couvrir par un papier d'aluminium dans un réfrigérateur pour éviter toute dégradation des extraits méthanoliques due à l'action de l'air et de la lumière.

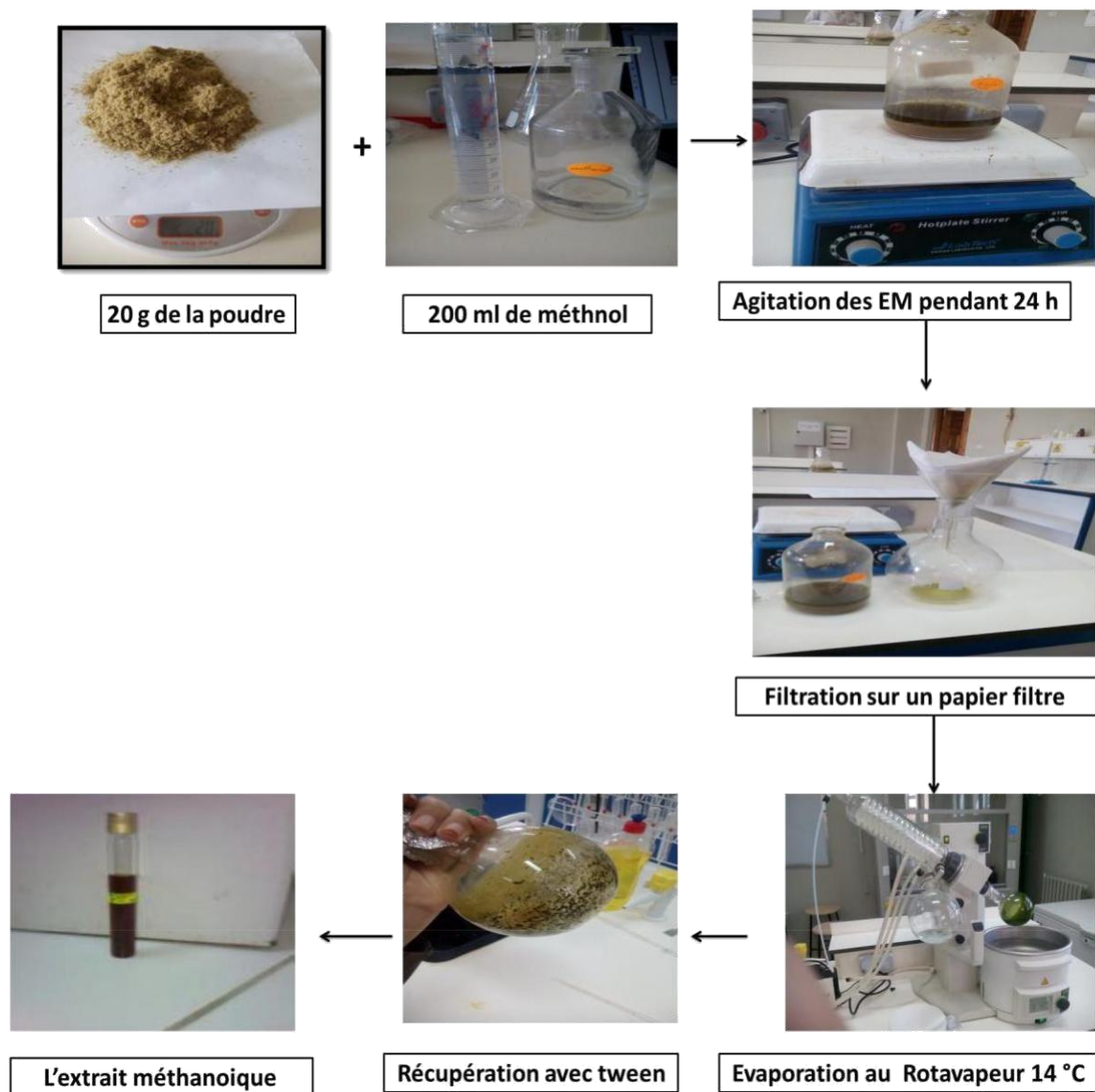


Figure24 : Protocole de préparation de l'extrait méthanolique (Guermit Asma , Rhaim fatima zohra;2018).

IV) _ Les tests de toxicité :

Les tests toxicologiques ont été appliqué conformément aux tests de sensibilité normalisés par l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S., 1963) adoptée pour tester la sensibilité des larves.

IV-1_ Détermination de l'effet larvicide des huiles essentielles du *Rosmarinus officinalis* :

A partir des huiles essentielles extraites, des solutions mères d'huiles essentielles de chaque échantillon ont été préparées dans de l'eau distillé, à partir desquelles des dilutions ont été réalisées dans l'eau de robinet déminéralisé pour obtenir des concentrations expérimentales prête à être tester.

IV-1-1_Tests de toxicité

Ces tests ont consisté à évaluer la mortalité des larves de *Culex pipiens* en présence des solutions diluées d'huiles essentielles suivant une méthodologie inspirée du protocole de l'Organisation Mondiale de la Santé (World Health Organization, 1985). En effet, 25 larves de stade 3 ont été prélevées à l'aide d'une pipette pasteur et mises dans des gobelets de 5 cm de diamètre contenant chacun 99 ml d'eau de robinet déminéralisé. Des expériences préliminaires ont permis de sélectionner une gamme de concentrations pour les tests proprement dits ; à partir d'une solution mère d'huile essentielles des concentrations de 0,05g /ml, 0,025g/ml et 0,012g/ml on été préparer. Par introduction d'un millilitre de chaque solution ainsi diluée dans les gobelets de 5 cm précédemment préparés, 2 répétitions ont été réalisées pour chaque dilution. Deux gobelets témoins ont été également constitués dans les conditions identiques aux gobelets tests. Le témoin négatif ne contenait que de d'eau (100ml) sans aucune trace d'huile essentielle (Jazet Dongmoet *al*, 2 0 0 9) .

Tableau 01: la représentation des concentrations des huiles essentielles de Romarin.

	CHE (g/ml)	CHE/2 (g/ml)	CHE/4 (g/ml)
Concentration(g/ml)	0,05	0,025	0,012

CHE : Concentration en Huile essentielles.

Le comptage de mortalité a été réalisé après 24 h, 48h et 72h d'exposition aux extraits volatils solubilisés dans l'eau

IV-2_ Détermination de l'effet larvicide des extraits aqueux du *Rosmarinus officinalis*.

À partir de l'extrait initial (solution stock 10 %) de la plante et l'eau du gîte larvaire, des concentrations de 9 %, 8 %, 7 %, 6 % et 5 % ont été préparées.

10 larves du stade 3 et 4 ont été prélevées à l'aide d'une pipette pasteur et mises dans des gobelets de 5 cm du diamètre, contenant chacun 99 ml d'eau du gîte (par introduction d'un millilitre de chaque solution ainsi diluée dans les gobelets précédemment préparés). Le même nombre de larves a été placé dans un gobelet témoin contenant 100 ml d'eau du gîte. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque dilution ainsi que pour le témoin.

IV-3_ Détermination de l'effet larvicide des extraits hydroéthanoliques du *Rosmarinus officinalis* :

Conformément aux directives de l'Organisation mondiale de la Santé OMS (WHO, 2005) des concentrations tests préliminaires ont été effectuées avant d'entamer le test de toxicité. Pour cela deux concentrations 151 mg/mL et 604 mg/mL de l'extrait hydroéthanolique de *Rosmarinus officinalis* ont été choisis dans les essais toxicologiques à l'égard du quatrième stade larvaire de *Culex pipiens*. Les concentrations préparées dans 1ml de solvant (méthanol/DMSO), ont été placées dans un gobelet en plastique contenant 150 mL d'eau déchlorurée et auquel sont rajoutés 20 larves nouvellement exuvies.

Les expériences ont été menées avec 7 répétitions pour la première concentration (151mg/mL) et 9 répétitions pour la deuxième concentration (60mg/mL). En parallèle on prépare dans les mêmes conditions aux gobelets tests, deux lots de gobelets qui seront utilisés comme des témoins :

- Témoin positif : comporte les larves L4 + le solvant.
- Témoin négatif : comporte les larves L4 seule.

Pour chaque série de concentration test et témoins positifs et négatifs, nous avons dénombré les larves mortes et vivantes après 1, 3, 6, 24, 48 et 72 heures

d'exposition. Pour chaque comptage on place les larves mortes dans un autre récipient.

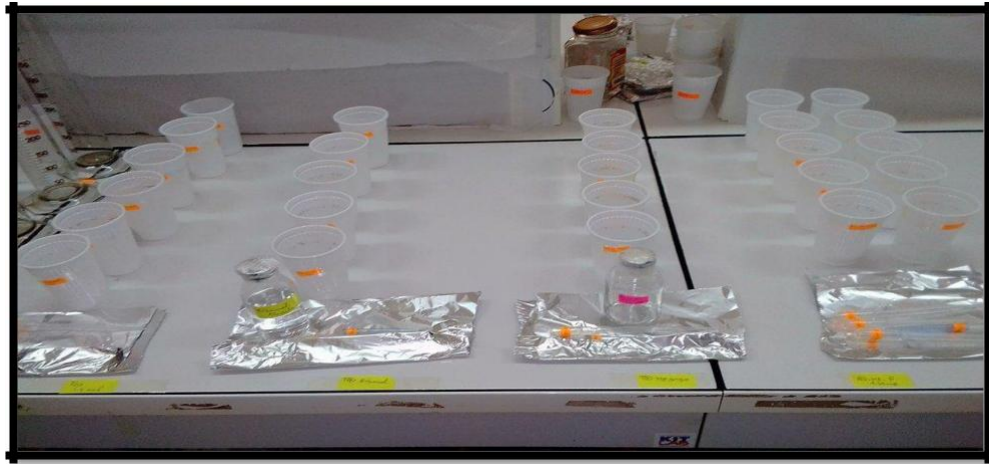


Figure 25: Photographie représentant les tests toxicologiques.

Après 24h de contact, les larves vivantes sont rincées avec l'eau déchlorurée, puis déplacées dans des nouveaux gobelets contenant 150 ml de l'eau déchlorurée avec l'ajout d'une petite quantité de nourriture.

IV-4_Détermination de l'effet larvicide des extraits méthanoliques du *Rosmarinus officinalis* :

Pour la plantes préparer 11 boite de pétrie de 90 mm du diamètre chaque boite contient 10 larve du stade 4 ont été prélevées à l'aide d'une pipette plastique, chaque boite de pétrie contenant 40 ml de l'eau de gîte puis en prélevé le même volume e l'eau de gîte et remplacé par un volume de différent concentration létal de l'extrait méthanolique plus la nourriture(les algues).

Le même nombre des larves a été placé dans une boite de pétrie témoin contenant la solution de TWEEN pure et une boite de pétrie témoin contenant l'eau de gîte. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque concentration ainsi que pour le témoin (Tableau 2). Les taux de mortalité ont été évalués après 24 h, 48 h et 72 h. Les concentrations ont été calculées pour chaque temps.

Tableau 2: les concentrations des extraits méthanoliques

Plantes médicinales	Rosmarinus officinalis
Les concentrations (ml/L)	0.50
	0.35
	0.13



Figure 26 : test de toxicité des extraits méthanolique sur les larves de *Culex pipiens*.

CHAPITRE

III

RÉSULTAT

I_Huile essentielle :

I-1_Détermination de l'effet larvicide d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* :

Tableau 03 : Moyenne de Mortalité (%) des larves de *Culex pipiens* de 2 répétitions en fonction de la concentration d'huile essentielle (g/ml) de R.

Officinalis végétales après 72 heures d'exposition.

<i>Espèce végétale</i>	Concentration	24h	48h	72h
<i>Rosmarinus officinalis</i>	0,05	84,78	100	100
	0,0025	71,73	76,08	84,08
	0,0125	23,90	34,78	41

II_ Extrait aqueux :

II-1_ Détermination de l'effet larvicide de l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis*.

Tableau 04 : Mortalité (%) des larves de *Culex pipiens* en fonction de la concentration des extraits aqueux (%) de romarin après 24 heures d'exposition

Espèce végétale	Doses testées %		Conditions de T° et H.R		%Mortalité après 24h	
	Dose %	Concentration %	T °c	H.R %	%Mortalité Témoin	%Mortalité
<i>Rosmarinus officinalis L.</i>	10	5	23,6	40	0	0
		6				0
		7				0
		8				5,55
		9				5,55

Tableau 05 : Mortalité (%) des larves de *Culex pipiens* en fonction de la concentration des extraits aqueux (%) du romarin après 24 heures d'exposition.

Espèce végétale	Doses testées %		Conditions de T° et H.R		%Mortalité après 24h	
	Dose %	Concentration %	T °c	H.R %	%Mortalité Témoin	%Mortalité
<i>Rosmarinus officinalis L.</i>	10	5	29,2	30	0	8,33
		6				8,33
		7				16,66
		8				12
		9				28,57

Tableau 06 : Moyenne de Mortalité (%) des larves de *Culex pipiens* de 2 répétitions en fonction de la concentration des extraits aqueux (%) de romarin après 24 heures d'exposition.

La concentration de l'espèce végétale <i>Rosmarinus officinalis L.</i>	5%	6%	7%	8%	9%	Témoin
Moyenne de Mortalité (%)	4,16	4,16	8,33	8,77	17,06	0

III_Extrait hydroéthanolique :

III -1_Détermination de l'effet larvicide de l'extrait hydroéthanolique de *Rosmarinus officinalis*:

Tableau 07 : Effet des deux concentrations-test de l'extrait hydroéthanolique *R. officinalis* sur le pourcentage de mortalité des larves L4 de *Culex pipiens* dans chaque période d'exposition (24,48 et 72h).

Concentration	Moyenne de pourcentage de mortalité à chaque temps de contact (%)		
	24h	48h	72h
151mg/ml	1,43	7,14	9,29
604 mg/mL	9,44	25	27,22

IV_Extrait méthanolique :

IV-1_ Détermination de l'effet larvicide de l'extrait méthanolique de *Rosmarinus officinalis*:

Tableau 08 : Mortalité (%) des larves de *Culex pipiens* en fonction de la concentration des extraits méthanoliques de romarin après 72 heures d'exposition.

Espèce végétale	Concentration	24h	48h	72h
<i>Rosmarinus officinalis L.</i>	0,13	40	80	100
	0,35	50	100	100
	0,5	60	100	100

V_Comparaison des taux des mortalités des larves de *Culex pipiens* exposés à l'extraits d'huile essentielle, à l'extrait aqueux, à l'extrait hydroéthanolique et à l'extrait méthanolique du romarin :

Tableau 09 : Comparaison des taux de mortalité (%) des larves de *Culex pipiens* en fonction de la concentration des extraits de huile essentielle, de l'extrait aqueux, de l'extrait méthanolique et de l'extrait hydroéthanolique du romarin après 24 ? 48 et 72 heures d'exposition.

Les extraits	concentration	Taux de mortalité (%)		
		24h	48h	72h
Huile essentielle	0,05 g/ml	84,78	100	100
	0,025 g/ml	71,73	76,08	84,8
	0,0125 g/ml	23,9	34,78	41

Extrait aqueux	5 g/ml	4,16	/	/
	6	4,16	/	/
	7	8,33	/	/
	8	8,77	/	/
	9	17,6	/	/
Extrait hydroéthanolique	151 mg/ml	1,43	7,14	9,29
	604 mg/ml	9,44	25	27,22
Extrait méthanolique	0,13	40	80	100
	0,35	50	100	100
	0,5	60	100	100

Chapitre IV

Discussion

Dans cette étude comparative, nous avons choisis de comparer quatre méthodes d'extractions qui ont aboutie à l'elaboration d'un extrait aqueux, d'une huile essentielle, d'un extrait méthanolique et d'un extrait hydro éthanolique d'une même espèce de plante « *Rosmarinus officinalis* » et ceci dans le but d'évaluer l'effet toxicologiques des 04 extraits obtenus, sur les larves de l'espèce *Culex pipiens L* et de comparer leurs efficacité en terme de mortalité larvaire.

Après avoir examiné les résultats obtenus à partir des mémoires sélectionnée et présentés dans les tableaux ci-dessus, nous avons constaté qu'il existe une sensibilité des larves aux 4 extraits utilisé et que cette sensibilité devient plus accrue en prolongeant la durée d'exposition à l'insecticide. En ce qui concerne l'extrait aqueux utilisée en 5 concentrations différentes de manière croissante, il ne présente pas d'effet toxique élevé sur les larves de *Culex pipiens* car la mortalité la plus élevée (17.6%) à été enregistré à la concentration la plus élevée qui est de 9 mg/l.

Concernant l'huile essentielle ; pour la concentration de 0.012 g/ml, la mortalité après 24 heures est relativement faible et la tendance est similaire même après 48 et 72 heures d'exposition, car elle n'atteint pas les 50% même après 03 jours d'exposition. En ce qui concerne la 2ème concentration "0.025g/ml ", nous constatons une augmentation significative de la mortalité qui a dépassé 50%. Quant à la dernière concentration de 0,05g/ml, la mortalité atteint les 85% en 24h d'exposition et arrive à 100% de mortalité à 48h. Les résultats obtenus pour l'huile essentielle de *R.officinalis* indiquent une corrélation significative entre les concentrations en huiles essentielles et les pourcentages de mortalité des larves

En ce qui concerne l'extrait hydroéthanolique ; la concentration de 151 mg/ml, présente des résultats de mortalité après 24, 48 et 72 h très faibles, pour la deuxième concentration de 604 mg/ml ; malgré que la concentration est très élevée par rapport à la première, l'effet toxicologique n'atteint pas les 10 % dès les premières 24 heures. Par ailleurs après 48 de contact l'extrait a provoqué la mort

du quart de la population pour atteindre un maximum de mortalité de 27,22 % après 72 heures d'exposition.

En ce qui concerne l'extrait méthanolique les résultats révèlent qu'à la concentration de 0.13 mg/l de l'extrait de *Rosmarinus officinalis*, on remarque un effet toxicologique significatif, car la mortalité larvaire est de 40% au bout de 24h. Ce taux, augmenté très légèrement pour atteindre son maximum de 80% à 48h et 100% à 72 heure. La concentration de 0.35 mg/l quant à elle a engendré une mortalité de 50% à 24 heures et a doublé en 48h pour atteindre une mortalité de 100%. Et finalement, on remarque la même chose pour la concentration de 0.5 mg/l car la mortalité atteint les 100 % après 48h d'exposition.

La technique d'extraction est une étape très importante dans l'isolement et la récupération des composés phytochimiques existants dans le matériel végétal (Quy Diem Do et al, 2014). Elle est influencée par la nature chimique des espèces végétales, la méthode utilisée pour l'extraction, la taille de l'échantillon étudié, ainsi que la présence de substances interférentes (Stalikas, 2005).

À partir de ces comparaisons on peut conclure que tous les extraits choisis (l'extrait aqueux, l'extrait méthanolique, l'extrait hydroéthanolique, l'huile essentielle) du *Rosmarinus officinalis* ont un effet toxique, allant parfois jusqu'à une excellente activité larvicide sur les larves de *Culex pipiens*. Ces extraits n'ont pas la même efficacité en terme de mortalité, car l'extrait aqueux et l'extrait hydroéthanolique apparaissent d'après les résultats beaucoup moins efficaces que l'extrait méthanolique et l'huile essentielle.

Quant aux méthodes d'extraction, nous constatons que la méthode d'extraction donnant un extrait méthanolique est la meilleure méthode comparé aux autres méthodes et ceci en comparant les taux de mortalité, car le solvant utilisé dans l'extraction de la plante et le temps d'exposition joue un rôle très important dans la toxicité des biopesticides, ceci à été prouvé par les taux variés enregistrés de mortalité.

Conclusion

Générale

Les Culicidae, sont sans doute, les insectes les plus connus et les plus redoutés tant pour le désagrément et nuisance que constitue leur présence, que par les maladies parasitaires qu'ils peuvent inoculer pendant leur repas sanguin, telle que la filariose, la fièvre jaune, la fièvre du virus du Nilotique Occidental. La résistance de ces insectes aux pesticides chimiques utilisés et la bioaccumulation des composés toxiques dans l'environnement, a incité les chercheurs à trouver de nouvelles méthodes alternatives biologiques, sélectives et, surtout, biodégradables, afin de préserver le milieu naturel. Plusieurs méthodes de contrôle sont élaborées notamment celle relative à l'utilisation des extraits de plantes comme insecticides.

Cette étude est une contribution qui consiste en une comparaison de quatre méthodes d'extractions qui ont aboutie à l'élaboration d'un extrait aqueux, d'une huile essentielle, d'un extrait méthanolique et d'un extrait hydro éthanolique d'une même espèce de plante « *Rosmarinus officinalis* » et ceci dans le but d'évaluer l'effet toxicologiques des 04 extraits obtenus, sur les larves de l'espèce *Culex pipiens L* et de comparer leurs efficacité en terme de mortalité larvaire.

La méthode d'extraction donnant un extrait méthanolique de romarin est la meilleure méthode comparé aux autres méthodes et ceci en comparant les taux de mortalité Cette action devient plus accrue en prolongeant la durée d'exposition à l'insecticide, suivi par l'extrait de l'huile essentielle qui est aussi très efficace sur les larves de *Culex pipiens* en terme de mortalité. Les extraits aqueux et hydroéthanoliques sont les moins efficaces en terme de taux de mortalité des larves de *Culex pipiens*.

A l'avenir il serait intéressant de compléter cette recherche, mais par l'utilisation d'autres solvants qui permettent d'estimer l'effet larvicide de cette plante et faire ainsi sa valorisation.

REFERANCES
BIBIOLOGRAPHIQUES

A

A.Z. ABAGLI 1.T.B.C. ALAVO 1* et J. BRODEUR; 2014 -Microorganismes entomopathogènes, prédateurs et parasites des moustiques: Perspectives pour la lutte raisonnée contre les vecteurs du paludisme en Afrique sub-saharienne.8(1): 340-354 343. 344.

Abdul-Ghani, R., Al-Mekhlafi, A.M., et Alabsi, M.S.2012 -Microbial control of malaria: biological warfare against the parasite and its vector. Acta Tropica, 121: 71–84

Acquaronne L., Corticchiato M., Ramzohi J., Raoul J L;1998 -Growing of monardafistulosta in france and getting of essential oils by hydrodiffusion.tRivista Italia app 761-765.

Adjimi Nour Elhouda Yamna;2014 -etude phisico-chimique del'huile extraite du rosmarinus officinalis.L ; mémoire de master ; Chimie Organique ; université – ZIANE ACHOUR – Djalfa; p26.

Andrean J. Gilbert L. Régine F., 1981- Dictionnaire de biochimie alimentaire et de nutrition technique et documentation .Paris Cedex 08, 21p

Anses, Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail ;2013 - Utilisation du téméphos pour la lutte antivectorielle. <https://www.anses.fr/fr/content/utilisation-du-t%C3%A9m%C3%A9phos-pour-la-lutteantivectorielle>, consulté le 05/07/2015

ANSES. 2011-Agence nationale de sécurité sanitaire, de l'alimentation, de l'environnement et du Travail. Rapport d'expertise collective : Recherche d'insecticides potentiellement utilisables en lutteanti-vectorielle.

Aouati, A ; 2016 - Etude de la toxicité de certaines plantes sur les larves de culex pipiens (Diptera, Culicidae).Doctorat; entomologie, Constantine : UNV des Frère Mentouri, p2-21-11_16_34_35.

Aouinty B., Oufara S., Mellouki F et Saadia M., 2006 - Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). *Biotechnologie. Agron. Soc. Environ.* 10 (2). 67-71p

Aouinty B, Oufara S, Mellouki F , Mahari S.;2006 -Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens*(Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata*(Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen)10 (2):p67 –7

Aouinty B., Oufara S., Mellouki F., Saadia M., 2006 - Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). *Biotechnologie. Agron. Soc. Environ.* 10 (2), 67 R 7 1

Atik Bekkara, F., Bousmaha, L., Taleb bendiab, S.A., Boti, J.B., Casanova J. 2007
- Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané.

_ B _

Balenghien T., 2006 - Identification des vecteurs du virus West Nile à la modélisation du risque d'infection en Camargue. Thèse d'Université en ligne à <http://tel.archives-ouvertes.fr>

Barbouche N., Hajjem B., Lognay G., Ammar M.:2001 -Contribution à l' étude de l' activité biologique d' extraits de feuilles de *Cestrum parqui* L' Hérit. (*Solanaceae*) sur le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forsk.). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 5 (2), p. 85–90.

Baraka, Murad Abdul Rahman; Al-Zakrawi, Ahmad Masoud,;2012 - Étude de corrélation de la résistance les antibiotiques contenant des plasmides dans deux isolats de bactéries salmonelles ont un rôle dans l'expansion Spectre de résistance pharmacologique chez les bactéries intestinales, Département des sciences animales, Faculté des sciences, Université sebha – Libye.

Becker, N., Petric, D., Zgomba, M., Dahl, C., Boase, C.,Lane, J., et Kaiser, A. 2010 - Mosquitoes and their control. Springer-Verlag, Heidelberg, Allemagne.

BELHATTAB A et TEKTAKI A 2016-2017 - Contribution à l'étude de la toxicité de deux plantes médicinales (*Rosmarinus officinalis* et *Juniperus phoenicea*) sur les larves de *Culiseta longiareolata* dans la région de Laghouat. diplôme de mastère .uni Laghouat .p21.26.30.40.46.51.

Balkew M, Elhassen I, Ibrahim M, Gebre-Michael T, Engers H.; 2006 - Very high DDT-resistant population of *Anopheles pharoensis* Theobald (Diptera: Culicidae) from Gorgora, northern Ethiopia. *Parasite*13(4): 327-329.

Beloued A., 2014 - Plantes médicinales d'Algérie, Office des Duplication universitaires, Département de Botanique à l'institut national Agronomique - El Harrach, Algérie. 187P.

Ben Amor B.;2008 -Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principesactifs : texturation par détente instantanée contrôlée(DIC).thèse ; Génie des Procédés Industriels, France:UNIVERSITÉ DE LAOCHELLE, p19

BEN MALEK L, 2010 - Etude bioécologique des culicidae des zones urbaine et rurales de l'extrême Nord-Est Algérien. Lutte bactériologique par le *Bacillus thuringiensis israelensis* sérotype H14 à l'égard des adultes femelles et des larves néonates d'*Anopheles maculipennis labbranchiae* et *Anopheles maculipennis sacharovi*. Thèse magister, Université Badji Mokhtar Annaba. Algérie

Bendali F. Djebbar F. Soltani N., 2001- Efficacité comparé de quelques espèces de poisson à l'égard de divers stades de *Culex pipiens* L dans des conditions de laboratoire. *Parasitica*, 57 (4) :255-265.

Benhissen S., 2016 - Identification, composition et structure des populations

BENIKHLEF A, 2014 - Comparaison entre les huiles essentielles et leurs effets antibactériens sur *Rosmarinus officinalis* de la région de Bechar et Ouargla .
Thèse de master, Université de Tlemcen, 27p

Benkalfate-El Hassar C., 1991 - Cartographie écologique de *Culex pipiens* (Diptère, Culicidae) en milieu urbain (ville de Tlemcen, Algérie) recherche de causalités de la dynamique démographique des stades pré imaginaires

Berchi S., 2000 - Bioécologie de *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) dans la région de Constantine et perspectives de lutte. Thèse de Doctorat Sciences, option Entomologie. Université de Constantine, Algérie, 133p.13

Berge T .O., 1975 - International catalogue of Arboviruses, including certain other viruses of Vertebrates. 2^e édition US Depart. Hlth. Educ. And Welfare.Public.N°75-8301

BERKANI Imène, HAMDANI Hanene, RAZKALLAH Nadia;2013 -Détermination de l'effet antibactérien de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* ;Mémoire de Master ; Biologie moléculaire et cellulaire : Biologie moléculaire des procaryotes ; université 08 MAI 1945 Gualma.

BEZZAOUTI OUARDA;2013 -Comparaison de l'efficacité des extraits aqueux et des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* (le Romarin) et de *Salvia officinalis* (la Sauge) avec un insecticide chimique la cyperméthrine sur les larves de *Culex pipiens* en conditions contrôlées ; mémoire de fin d'étude ; Université Saad Dahleb Blida. P10

BouabidaH, DjebbarF & SoltaniN.; 2012 -Etude systématique et écologique des moustiques (Diptera: Culicidae) dans la région de Tébessa (Algérie). Entomologie.

BouabidaH., DjebbarF & SoltaniN.;2012 -Etude systématique et écologique des faunistique – Faunistic Entomology.65 : 99-103.moustiques (Diptera: Culicidae) dans la région 9

Boudemagh N., Bendali Saoudi F., Soltani N., 2013 - Inventory of Culicidae (Diptera: Nematocera) in the region of Collo (North-East Algeria). *Annals of Biological Research*, 4 (3): 1-6.

BOUDERHEM A.;2015 -Effet des huiles essentielles de la plante *Laurus nobilis* sur l'aspect Toxicologique et morphométrique des larves des moustiques (*Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*).mémoire; Biochimie appliquée, UNIVERSITE ECHAHID HAMMA LAKHDAR D'EL-OUED, p2

BOULLARD ; 2010 - BOUDJEMAA Nour Elyakin et BEN GUEGUA Hadjer, L'effet antibactérien de *Nigella Sativa*. Université Kasdi Merbah Ouargla

BOUSKAYA Zaineb ; DEGACHI Ihcen;2018 -Etude bioécologique et systématique de la population Culicidienne dans la région l'oued ;, diplôme de Master Académique en Sciences biologiques ;, Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED;p17

Brunhes J., Rhaim A., Geoffroy B., Angel G. & Hervy J.P. 1999 -Les Culicidaees de l'Afrique méditerranéenne, logiciel d'identification et d'enseignement, IRD (France).

_ C _

Carnevale P., Robert V., Manguin S., Corbel V., Fontenille D., Garros C R. et Ogier C., 2009 - Les anophèles, Biologie, transmission du Plasmodium et lutte antivectorielle. IRD éditions institut de recherche pour le développement
Marseille.

Chapman, H.C. 1974 -Biological control of mosquito larvae. *Annual Review of Entomology*, 19: 33–59

Clastrier J., 1941 - La présence en Algérie d'*Orthopodomyia pulchpalpis*. *Rodani*

Crosby, D G. 1966 -Natural Pest control agents. In Gould, R.F.(Ed.). *Natural pest control Agents*. *Adv.Chem. Ser.* (53): 1-16 Culicidiennes de la région d'Ouled-Djellal (Biskra). Effet des facteurs écologiques D'Annaba, Algérie, 135p.

_ D _

DaJoz, R.'1996 -Précisdécologie'Dunod6èm"ed"Paris:551pp'

DJABI A, KHOBIZI B.:2018 -Etude de l'effet des extraits aqueux et éthaloniques de Romarin sur la croissance de quelques champignons phytopathogènes.mémoire ; Protection des végétaux, UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA, p1

De Ley P, Blaxter M. 2002 - Systematic position and phylogeny. In The Biology of Nematodes, Lee DL (Ed). Taylor and Francis: London; 1–30
<https://www.google.com/amp/s/www.bbc.com/afrique/amp/region-52536579>.

_ E _

Eberhard T., Robert A. et Annelise L., 2005 - Plantes aromatiques : Épices, aromates condiments et huiles essentielles, 3ème édition, TECS Doc, Rue Lavoisier F 75008 Paris, France. 417p.

El-AkhalF., GrecheH., OuazzaniF.C., GuemmouhR., El Ouali L.A.:2015 - Composition chimique et activité larvicide sur Culex pipiens d'huile essentielle de Thymus vulgaris cultivées au Maroc Chemical composition and larvicidal activity of Culex pipiens essential oil of Thymus vulgaris grown in Morocco. J. Mater. Environ. Sci. 6(1):214-219.

_ F _

Faraj C., Elkohli M et Lyagoubi M., 2006 - Cycle gonotrophique de Culex pipiens (Diptera : Culicidae), vecteur potentiel du virus West Nile, au Maroc : estimation de la durée en laboratoire. Bull. Soc. Path. Exot. 99 (2). 119-121p

Faraj C., Elkohli M., Lyagoubi M., 2006 - Cycle gonotrophique de Culex pipiens (Diptera: Culicidae), vecteur potentiel du virus West Nile, au Maroc: estimation de la durée en laboratoire. Bull Soc Pathol Exot 99(2): 119-121.

Fécherolle, J. 2008-Évaluation de l'efficacité des actions de lutte anti-vectorielle en France : état des lieux et recommandations. Mémoire de l'école des hautes études en santé publique. 50p.

Focks, D. A.; 2007 - Toxorhynchites as biocontrol agents. Journal of the American Mosquito Control Association, 23(sp2), 118-127

Frédéric DARRIET; 1998 - la lutte contre les moustiques nuisants et vecteurs de maladies karthala .2-24, boulevard Arago 75013 Paris.p41

_ G _

GAIDI I. GOUCEM C ., 2017 - Étude de l'activité larvicide des huiles essentielles de Ruta graveolens à l'égard d'une espèce de moustique Culex pipiens . Memoire de master, Université de larbi tébessi – tbassa. 33p

GARNERO J., 1996 - Huiles essentielles. Techniques de l'ingénieur K345 pp 1-45.

Georghiou GP., Ariaratnam V., Pasternak ME., Lin CS.; 1975 - Organophosphorus multiresistance in Culex quinquefasciatus in California. J. Econ. Entomol. 68, p. 461–467.

GERBERICH J.B.et LAIRD M.;1 968 - Bibliography of papers relating to the control of mosquitoes by the use of fish. An annotated bibliography for the years 190 1 - 1966. FAO Fisheries Tech., paper 75. FRS/T 75: 1-70.

Ghrab J ET Bouattour A.; 1992 - Etude expirimentale de l'efficacite larvivor de Gambusi affinis holbrooki (Girard, 1859) (Poisson-Poecilidae) Archs. Inst.Pasteur Tunis.76: 35-40.

Gildemeister E., Hoffmann F;1919 - Les huiles essentielles, 2e éd., Tome III, Ed. *Miltitz*, p.634-635.

Gineste C., 2010 -Le grand livre des plantes aromatiques et médicinales, 1 er édition, Flora Dumolin, archipel studio16. 52 p.

Goislard C., 2012 -les répulsifsanti-moustiques à l'officine. Thèse Docteur pharmacie. Université Angers.cedex, 120P.

GOISLARD Céline, 2012 – des repectifs anti-moustiques à l'officine ;diplome d'état de docteur en pharmacie; université Angers ;Département Pharmacie ; p40

GRID Narimane et HAMAIDI Aida;2018 -Etude comparative de l'effet des extraits aqueux et des huiles essentielles de certaines plantes contre les larves de *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae) ; mémoire de master ; Université des Frères Mentouri ; Constantine;p 16

Guarrera P. M., 1999 - J. Ethnopharmacology, 68, 183.

Guemidi Ch, Djerourou N,; 2017 -Effets antimicrobiens de l'extrait au éthanol de *Thymus vulgaris*(Thym) récolté dans la région de Naama sur la croissance des germes spécifiques du yaourt : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.mémoire ;CONTROLE DE LA QUALITE DES ALIMENTS.Université Abdelhamid Ibn BadisMostaganem,p1

Guernit, A. Rhaim, FZ.;2019 - Contribution à l'étude de la toxicité de deux plantes médicinales (*Rosmarinus officinalis* et *Artemisia herba alba*) sur les larves deculicidées dans la région de Oued souf.mémoire;Biodiversité et Environnement·Université Echahid Hamma Lakhdar El -OUED·p1

Guyatt H.L., Dnow R.W., Evans D.B., 1999 - Malaria epidemiologie and economics effects of delayed immune acquisition on the cost effectiveness of insecticide treated bed nets. Tans. R. Soc. Lon. B. 345: 827-835p.

_ H _

Hans W. et Kothe F., 2007 - Plantes aromatiques et médicinales ,1er edition, Terres éditions, Toulouse. 182 - 271p.

Hassain K., 2002 - Biogéographie ET biotypologie des Culicidae (Diptère: Nématocera) de l'Afrique méditerranéenne. Bioécologie des espèces les plus vulnérantes (ae- caspius, ae detritus, ae mariae et cx pipiens) de la région occidentale Algérienne Thèse doc D'état. Univ Tlemcen.203 p

Hassaine K., 2002 -Bioécologie et biotypologie des culicidae de l'Afrique méditerranéenne. Biologie des espèces les plus vulnérantes (Ae. caspius, Ae. detritus, Ae. mariae et C.pipiens) dans la région occidentale algérienne. Thèse de Doctorat sciences. Université de Tlemcen. 191P

_ J _

Jacobson, M. 1989 - Botanical pesticides, past present and future In Arnason JT.et al. (Ed.).Insecticides of plantorigin.Washington, D.C.: American Chemical Society Symposium, series 387, p. 1-10.

Jolivet, 1980- Les insectes et l'homme. PUF, collect. Que sais-je? , 128 PP

Jovana Deravel, François Krier, Philippe Jacques.; 2014 - Les biopesticides, compléments et alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique).18(2), p220-232

_ K _

Kellen WR, Clark TB, Lindegren JE. 1963 - A possible polyhedrosis in *Culex tarsalis* Coquillett (Diptera: Culicidae). J. Insect Pathol, 5: 98–103

Kenis, M., Hurley, B., Hajek, A., E. and Cock, M.;2017 -Stratégies de lutte biologique contre les insectes invasifs.(document power point).document téléaccessible à l'adresse
https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=http://docs.gip-ecofor.org/public/Regefor2017/S1-3%2520Kenis.pdf&ved=2ahUKEwjn5KL3spbrAhWId98KHQqRCzEQFjAAegQIAhAB&usg=AOvVaw1a16H4DBxcS72JSIxZ6e1_

Kim K.S., Chung B.J. & Kim H.K., 2000 - DBI-3204: A new benzoylphenyl urea insecticide with particular activity against whitefly. Proceedings of the British Crop Protection Council Conference. Pests and Diseases., (1): 41-46.

Kosone K., Mayumi I., Kimio K. & Akihiro K., 2008 - distribution of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) complex in Yokohama Japan. Proceeding of the sixth international conference on urban pests. 497pp

Kosone T., Takagi H., Horiguchi N., Kakizaki S. and Sato K., 2008 -Transforming growth factor-alpha accelerates hepatocyte repopulation after hepatocyte transplantation. J. Gastro. Enterol. Hepatol., 23, 260-266 -120p.

Kostyukovsky M., Chen B., Atsm S. & Shaaya E., 2000 - Biological activity of two juvenoids and two ecdysteroids against three stored product insects. Insect Biochem. Molec. Biol., 30: 891-897.

_ L _

Labed, F.;2019 - La surveillance entomologique du moustique tigre (*Aedes albopictus*) dans l'Algérois.Doctorat ; Vétérinaire,Université Saad Dahlab-Blida 1,p1

Lacey, L.A. ET Undeen, A.H. 1986 -Microbial control of black flies and mosquitoes. Annual Review of Entomology, 31: 265–296.

Lacoursière, J.O. & Boisvert, J. 2004 -Le *Bacillus thuringiensis israelensis* et le contrôle des insectes piqueurs au Québec. Doc. Univ. Trois-Rivières Québec. Dép. chimie-biologie. Minist. Env. Québec. Envirodoq. 101p.

LarhbalıY., BelghytiD., EL GuamrıY., LahlouO., EL KharrımK., KhemariZ., EL MadhiY.; 2010 - Sensibilité de deux moustiques Culicidés (*Anopheles labranchiae* et *Culex pipiens*) Aux insecticides. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux. 149: 33-42.

Leng P., Zhiming Z., Guangtang P. & Maojun Z., 2011 -Applications and development trends in biopesticides. Afr. J. Biotechnol., 10(86), 19864-19873.

Linnée C., 1758 - Systema naturae per regna tria naturae. Edition 10. Vol.1.Holmiae. 824p

Lobo J.M., Lumaret J.P. ET Jay Robert P., 1997 - Les atlas faunistiques comme

Lounaci Z., 2003 - Biosystématique et bioécologie des Culicidae (Diptera,

LEHOUT R, LAIB M,; 2015 -Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : *Artemisia herba alba* Asso.mémoire ; Biochimie moléculaire et santé, Université des Frères Mentouri Constantine.p3

Luque de Castro, M. D. and L. E. Garcia-Ayuso ,;1998 - "Soxhlet extraction of solid materials: An outdated technique with a promising innovative future." Analytica Chimica Acta 369: 1-10.

Luque-Garcia, J. L. and M. D. Luque de Castro,; 2003 -"Ultrasound: A powerful tool for leaching." Trends in Analytical Chemistry 22: 41-47.

Luz C, Tai MHH, Santos AH, Rocha LFN, Albernaz DAS, Silva HHG, 2007- Ovicidal activity of entomopathogenic Hyphomycetes on *Aedes aegypti*(Diptera: Culicidae) under laboratory conditions. Journal of Medical Entomology, 44: 799–804.

M

Maisonneuve S.A; 1996 -Pharmacopée Européenne 1 Conseil de l'Europe. Editions, Sainte Ruffine.

Maisonneuve S.A; 1996 -Pharmacopée Européenne 1 Conseil de l'Europe. Editions, Sainte Ruffine.

Martin ECHE, «MOUSTIQUE», *Encyclopædia Universalis* [en ligne], consulté le 12 juillet 2020.eMAÏB URL: <http://www.universalis.fr/encyclopedie/moustique/>.
materials: An outdated technique with a promising innovative future."
Analytica Chimica Acta 369: 1-10.

Mathilde goulou;2015 -Développement d'une nouvelle stratégie de protection chimique contre les moustiques vecteurs de maladies : utilisation d'une association répulsif/insecticide afin d'optimiser l'efficacité du traitement tout en réduisant les doses utilisées;mémoire, L'Université Nantes Angers Le Mans , France,p31-39

Matile L. 1993 - Les Dipteres d'Europe Occidentale. Introduction, techniques d'étude et morphologies. Nematocères, Bracchycères, Orthorrhaphes et Aschizes. Ed. Boubée, Paris.

Meryem ALAOUI BOUKHRIS;2009 -Activités larvicides des extraits de plantes sur les larves de moustiques vecteurs de maladies parasitaires ; MEMOIRE DE FIN D'ETUDES Faculté des sciences et techniques Fès

Mogi, M.; 2007 - Insects and other invertebrate predators. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23(sp2), 93-109.

MOMPON B.; 1994 - Quel avenir commercial pour les produits obtenus par les nouvelles technologies d'extraction: CO2, Microondes, ultrasons, nouveaux solvants,4 ième rencontre internationale de Nyons,p. 149-166.

N

NADJI, H.(2011) - contribution a l'étude des moustiques de la région de Biskra : aspectssystématique ,ecologique , biochimiqueet énergétique .mémoire;Biologie Animal,Université de Mohamed Kheider -BISKRA,p1.(Nematocera) en milieux rural et agricole. Thèse de Magistère, INA, El-Harrach,

_ O _

O.M.S ;1992 - Résistance des vecteurs et pesticides. Ser. Rap. Tech. 1992, n"818

O.M.S., 1963 - Méthode à suivre pour déterminer la sensibilité ou la résistance des larves de moustiques aux insecticides. In résistance aux insecticides et lutte contre les vecteurs. Treizième rapport du comité OMS d'experts des insecticides, Genève : OMS, Sér. Rapp. Techn. 265 : 55-60

O.M.S.2020-

https://www.who.int/denguecontrol/control_strategies/biological_control/fr/.

_ P _

P. CARNEVALE; 1995 - Unité de lu Forinution, Division de lu Lutte contre les Muludies Tropicules, Orgunisation Mon- diale de la Sumé, Ch 1211, Genève 27, Suisse.p59

Pavan M., 1986 -Una revolutione. Cultural. Europea. La "carta sugli invertebrate" delonsiglio d'europa. Pubblicazioni d P. CARNEVALE ell' Institute entonologico. Universita di Pavia, 33:1-51.

Philogene B, J,R ;1991 - L'utilisation des produits naturels dans la lutte contre les insectes problèmes et perspectives

R

Rageau J. et Delaveau P., 1980 - effets toxiques d'extraits de végétaux sur les larves de moustiques. Bulletin de la société de pathologie exotique. (72): 168-171.

Rahayour K - Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium*, thèse de doctorat national, université : sidi Mohammed ben Abdellah. Faculté des sciences, dar mehraz. Fès. 2002,212P.

Resseguier P., 2011 - Contribution a l'étude du repas sanguin de *Culex pipiens pipiens*. Thèse d'exercice, école nationale de Toulouse-ENTV ,80p

Rhodain, F. & Perez, C., 1985 - Précis d'entomologie médicale et vétérinaire ; Maloine .S A Editeur 27, Rue de l'école médecine 75006, Paris ; 443p

Rioux J.-A. & Arnold M., 1955 - Les culicides de camargue (étude systématique et biologique). La terre et la vie, revue d'histoire naturelle 4 : 244-246.

Ripert C. 2007 - Epidémiologie des maladies parasitaires, tome 4, affections provoquées ou transmises par les arthropodes. Cachan: EM inter. p 581.

Robert V., 1989 -Biologie des Anophèles vecteurs de paludisme en Afrique Centrale. Bull. liais. Doc., 70-74

Rodhain F., Perez C., 1985 - Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Paris: Maloine 458 p.

Rombi M. et Dominique R., 2007 -120 Plantes médicinales : Composition, mode d'action et intérêt thérapeutique 9ème Ed, Alpen, France. 398 - 399 - 400p.

Roth M., 1980 - Initiation à la morphologie, la systématique et la biologie des insectes. Office de la recherche scientifique et technique outre-mer Paris (23).

_ S _

Savage H.M. & Miller B., 1995 - House Mosquitoes of the U.S.A., *Culex pipiens* Complex. *Wing Beats* 6: 8-9.

Schaffner F., Angel G., Geoffroy B., Hevry J.P., Rhaïem A. & Brnhes J., 2001 - Moustique d'Europe. Institut de recherche pour le développement IRD. Logiciel d'identification.

Scholte EJ, Knols BGJ, Samson RA, TakkenW, 2004 - Entomopathogenic fungi forp mosquito control: a review. *J. Insect Sci.* 4/19: 1-24. (insectscience.org/4.19)

Senevet G. et Anderlli L., 1956 - Les Anophèles de l'Afrique du Nord et du basin.

Sinegre G., Jullien J.-L., Crespo O., 1976 - Résistance de certaines populations de *Culex pipiens* (L.) au Chlorpyrifos (Dursban) en Languedoc-Roussillon (France). *Cah. ORSTOM, sér. ent. méd. et parasitol.* XIV(1) : 49-59.

Sinegre G., Jilien JL., Gaven B. ;1977 - Acquisition progressive de la résistance au chlorpyrifos chez les larves de *Culex pipiens* (L.) dans le Midi de la France. *Parasitologia* 19 (1/2), p. 79–94.

Snodgrass R.E., 1959 - The anatomical life of the Mosquito. *Smiths.misc.Coll.*, 139 (8),1-87.

SOKOLOVA E.;1983 - Perspectives d'application des insecticides biogènes. La lutte contre le paludisme. Les méthodes écologiquement rationnelles de lutte contre le paludisme et ses vecteurs. Tome 2. La lutte antivectorielle et la protection de l'environnement. Édition MIR : 128- 139. sur l'abondance saisonnière. Essais de lutte. Thèse de Doctorat, Université

Stalikas C D.; 2007 - Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *J. Sep. Sci.* 2007, 30, 3268–3295

_ T _

TABTI Nassima;2017 -Etude comparée de l'effet de *Bacillus thuringiensis* sur les populations purifiées et des populations des gîtes artificiels de *Culex pipiens* (Diptera –Culicidae) dans la ville de Tlemcen; thèse de doctorat ;Université de Tlemcen, p28 _ 3

Thakore Y., 2006 -The biopesticide market for global agriculture use. Ind. Biotechnol. 2, 194-208.

Thierry Damien A.O.;2011- Lutte bio-écologique contre *Culex pipiens quinquefasciatus* en milieu urbain au Burkina Faso. Thèse de doctorat en Entomologie, Université de Ouagadougou. 127p

Trari B. 1991 -Catalogue raisonné des peuplements du Maroc et études typologiques de quelques gîtes du Gharb et de leurs communautés larvaires. Thèse de 3ème cycle, Fac. Sc., Univ. Mohamed V, Rabat, p209.

Trari B., Dakki M., Himmi O & El Agbani M.A., 2003 - Les moustiques (Diptera Culicidae) du Maroc. Revue bibliographique (1916-2001) et inventaire des espèces. Bull Soc Pathol Exot, 95, 4: 329-334.

_ U _

Urquhart G.M., Armour J., Duncan J.L., Dunn A.M. and Jennings F.W. 1996 - Veterinary parasitology. 2nd edition. Oxford: Blackwell science. p 307.

_ V _

Vassiliki G.K., Goran T., Ivana N., Alexandra A.N., Nisar S., Stanislava S.G., Ivana S., Ioannis P.G., Andreas G.T ;2013 - Phytochemical profile of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* extracts and correlation to their antioxidant and anti-proliferative activity. *Food Chemistry*.136:120-129.

Veillet, S., Tomao, V., & Chemat, F.;2010 - Ultrasound assisted maceration: An original procedure for direct aromatisation of olive oil with basil. *Food Chemistry*, 123(3), 905–911.

Veillet, S., Tomao, V., & Chemat, F.;2010 - Ultrasound assisted maceration: An original procedure for direct aromatisation of olive oil with basil. *Food Chemistry*, 123(3), 905–911.

_ W _

Weill M., Duron O., Labbé P., Berthomieu A., Raymond M., 2003 -La résistance du moustique *Culex pipiens* aux insecticides. *M/S* 12 (19).

WHO; 2005 -Guidelines For Laboratory And Field Testing Of Mosquito Larvicides.39p.

Wilson E O.,1988-The current state of biological diversity; In: *EO.Wilson.biodiversity*. P .3-18. Washington DC: National Academy Press. *Parasitologia, Ornithologia, Entonologia*.Institute of ecology, Vilnius. ISSN 13926

_ Y _

Yeed A., Kesavaraju B., and Juliano S. A., 2004 - Larval feeding behavior of three cooccurring species of container mosquitoes. *J. Vector Ecol.* 29(2), 315–322

_ Z _

Zardoumi S.;2014 - *Artemisia campestris* L dans la région d'Ares, étude anatomique et étude de l'activité bactérienne et antioxydante de son huile

essentielle. Majistar,valorisation des ressources végétales,Sétif, Université Farhat Abbas,Page 1_25

Zeghad Nadia,2008 - Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt Économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activite Antibactérienne), Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister (Ecole doctorale), Université Mentouri Constantine, P8.

Zerroug S., Aouati A and Berchi S.; 2017 - Histopathology of *Culex pipiens* (Linée, 1753) (Diptera, Culicidae) larvae exposed to the aqueous extract of *Eucalyptus globules* l'Hér, 1789 (Myrtaceae).Journal of Entomology and Zoology Studies. 5(3): 759-765.

ZERROUG SARRA;2018 -Etude biométrique et histologique sur des larves de *Culex pipiens* Linnée, 1758 (Diptera, Culicidae) Exposées aux extraits aqueux de plantes ; diplôme de doctorat; Biologie Animale ; Biodiversité et Écologie des Arthropodes ; Université des Frères Mentouri Constantine. P38 – 39_4_7_12_13

Site d'internet :

http://pestinfos.blogspot.com/p/blog-page_23.html?m=1#:~:text=La%20lutte%20biologique%2C%20appel%C3%A9e%20aussi,maladies%2C%20les%20champignons%20phytopathog%C3%A8nes%2C%20les

<https://ar.thpanorama.com/articles/biologa/control-biologico-tipos-estrategias-ventajas-desventajas-y-ejemplos.html>

<https://biocontrol.entomology.cornell.edu/index.php#>

<https://fytoweb.be/fr/produits-phytopharmaceutiques/produits-specifiques/biopesticides>

<https://journals.openedition.org/vertigo/4093>

https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=https://hautsdefrance.cambres-agriculture.fr/fileadmin/user_upload/National/FAL_commun/publications/Hauts-de-France/methodesalternatives.pdf&ved=2ahUKEwjz8eKsv5brAhVR1BoKHfnTAF4QFjADegQIBxAB&usg=AOvVaw0GDBMwOZJqYpLJogqxFy1L

<https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=https://isaranet.fr/webcours/MOOC/res/Biopesticides.pdf&ved=2ahUKEwiIjsz98JXrAhWSzIUKHY85DekQFjAGegQIBxAB&usg=AOvVaw0R1RWIvN1Sm4xX4ShfiRAE&cshid=1597242845491>

<https://www.universalis.fr/encyclopedie/lutte-biologique/3-les-biopesticides/>

Abstract

Culicidae are vectors of zoonoses of considerable medical and veterinary significance. A change in the geographic distribution of these vectors, mainly caused by anthropogenic factors, is currently accompanied by (re) emergence of infectious diseases such as malaria, yellow fever, dengue fever, filariasis. Unfortunately, the mosquito has developed resistance vis-à-vis the most commonly used insecticides in different programs. These means of vector control harmful to humans, animals and the environment due to their accumulation in the environment. Biological control offers new solutions to combat these harmful insects, while preserving the environment and associated non-target fauna.

The objective of our work is the comparative study of the extraction methods which give at the end (aqueous extract, methanolic extract, hydroalcoholic extract, essential oil ...) of *Rosmarinus officinalis* (which is a spice and medicinal plant largely used and available for use as a natural biopesticide against Culcidae) using the results of four papers, each of which studies the toxicity of a different extract on *Culex pipiens* larvae.

The results show variable sensitivity of the larvae; this sensitivity is even higher with the increase in the concentration of the extract. In addition, we noted that the methanolic extracts and the essential oils of *Rosmarinus officinalis* are more effective than the aqueous and hydroalcoholic extracts.

Key words: *Culex pipiens*, extraction methods, aqueous extracts, methanolic extracts, hydroalcoholic extracts, essential oils, *Rosmarinus officinalis*

الملخص

، التغيير في التوزيع الجغرافي لهذه النواقل إن أهمية طبية وبيطرية كبيرة ناقلات للأمراض الحيوانية المنشأ ذات هي Culicidae الصفراء ، وحمى الأمراض المعدية مثل الملاريا ، والحمى ظهور (إعادة) ، يترافق حاليًا مع الناجم بشكل رئيسي عن العوامل البشرية هذه .المختلفة الحشرية الأكثر استخدامًا في البرامج الحظ، طورت البعوضة مقاومة مقابل المبيدات ولسوء .الضنك ، وداء الفيلاريات هذه المكافحة البيولوجية حلولًا جديدة لمكافحة تقدم .والحيوان والبيئة بسبب تراكمها في البيئة الوسائل لمكافحة النواقل ضارة بالإنسان .والحيوانات غير المستهدفة المرتبطة بها الحشرات الضارة ، مع الحفاظ على البيئة

مائي ، مستخلص ميثانولي ، مستخلص مستخلص) الاستخراج التي تعطي في النهاية من عملنا هو الدراسة المقارنة لطرق الهدف ومتاح للاستخدام نبات توابل ونبات طبي إلى حد كبير يستخدم وهو) Rosmarinus officinalis لـ (... كحولي ، زيت عطري مائي Culex مستخلص مختلف على يرقات نتائج أربع أوراق، كل منها يدرس سمية باستخدام (Culcidae كمبيد حيوي طبيعي ضد pipiens.

إلى ذلك ، لاحظنا أن بالإضافة .المستخلص الحساسية تكون أعلى مع زيادة تركيز هذه .النتائج حساسية متغيرة لليرقات أظهرت فعالية من المستخلصات المائية والكحولية أكثر Rosmarinus officinalis والزيوت الأساسية لعطر المستخلصات الميثانولية

المائية ، المستخلصات الميثانولية ، المستخلصات طرق الاستخراج ، المستخلصات المائية ، ، Culex pipiens : المفتاحية الكلمات Rosmarinus officinalis ، الأساسية الزيوت

Nom et Prénom : TALEB Ihssane
Nom et Prénom : Boudemagh Imene

Encadreur : AOUATI Amel

Titre : Etude comparative des méthodes d'extraction de plantes utilisées comme bio pesticide contre les *Culicida* (Cas de l'espèce *Culex pipiens* en Algérie).

**Mémoire en vue de l'obtention du diplôme :
Master en Biologie, Evolution Et Contrôle De Population D'insectes**

Résumé :

Les Culicidés sont des vecteurs de zoonoses d'incidence médicale et vétérinaire considérables. Une modification de la distribution géographique de ces vecteurs majoritairement engendrée par des facteurs anthropiques est actuellement accompagnée de (ré-) émergences de maladies infectieuses tel que le paludisme, la fièvre jaune, la dengue, la filariose. Malheureusement, le moustique a développé une résistance vis-à-vis des plus insecticides couramment utilisés dans différents programmes. Ces moyens de lutte antivectorielle nocifs pour l'homme, les animaux et l'environnement en raison de leur accumulation dans l'environnement. La lutte biologique propose de nouvelles solutions afin de lutter contre ces insectes nuisibles, tout en préservant l'environnement et la faune associée non visée.

L'objectif de notre travail est l'étude comparative des méthodes d'extractions qui donnant à la fin (extrait aqueux, extrait méthanolique, extrait hydro alcoolique, huile essentielle...) du *Rosmarinus officinalis* (qui est une plante épice et médicinale largement utilisée et disponible pour une utilisation comme biopesticide naturel contre les *Culicidae*) en utilisant les résultats de quatre mémoires dont chacune étudie la toxicité d'une extrait différente sur les larves de *Culex pipiens*.

Les résultats montrent une sensibilité variable des larves; cette sensibilité est encore plus élevée avec l'augmentation de la concentration de l'extrait. Par ailleurs nous avons noté que les extraits méthanoliques et les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* sont plus efface que les extraits aqueux et hydroalcooliques.

Mots clés : *Culex pipiens*, les méthodes d'extractions, extraits aqueux, extraits méthanolique, extraits hydroalcoolique, huiles essentielles, *Rosmarinus officinalis*.

Laboratoire de recherche, service, CHU, hôpital militaire, Laboratoire (faculté) :
.....

Jury d'évaluation :

Présidente du jury :	BAKKIRI Esma	Docteur	Université des frères Mentouri. .
Rapporteur :	AOUATI Amel	Docteur	Université SB Constantine 3.
Examineur :	AGUIB Sihem	Docteur	Université des frères Mentouri.

Date de soutenance : 20 septembre 2020